



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

## NOVÝ ZPŮSOB PŘÍPRAVY HYDROGELŮ

A NOVEL WAY OF PREPARING HYDROGELS

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Olga Kratochvílová

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Filip Mravec, Ph.D.

BRNO 2016



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	<b>FCH-BAK1051/2015</b>	Akademický rok: <b>2015/2016</b>
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	<b>Olga Kratochvílová</b>	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)	
Vedoucí práce	<b>Ing. Filip Mravec, Ph.D.</b>	
Konzultanti:		

### Název bakalářské práce:

Nový způsob přípravy hydrogelů

### Zadání bakalářské práce:

1. Provést rešerši na přípravu fyzikálně síťovaných biokompatibilních hydrogelů.
2. Studovat vliv výchozího poměru látek na vznik hydrogelu na bázi hyaluronan-CTAB, připraveným tzv. suchou cestou, kdy se výchozí ingredience smíchají v suchém stavu a až následně je přidáno disperzní prostředí.
3. Pomocí pozorování a vhodné instrumentální techniky diskutovat vliv poměru jednotlivých složek na vznik hydrogelu.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Olga Kratochvílová  
Student(ka)

-----  
Ing. Filip Mravec, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Tato práce je zaměřena na testování vlivu iontové síly na přípravu hydrogelů připravených pomocí fázové separace polyelektrolytu hyaluronanu sodného (Hya) s kationaktivním tenzidem cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB) tzv. „suchou cestou“. V tomto případě dojde ke smísení polymeru a tenzidu v suché formě a následně je přidáno disperzní prostředí. Pomocí pozorování a reologie byl zkoumán vliv poměru jednotlivých složek na vznik hydrogelu. Bylo zjištěno, že čím vyšší je iontová síla, tím má hydrogel nižší viskozitu a je více tekutý, tento fakt byl potvrzen i na základě výsledků reologických měření. Gel s iontovou silou 1 M je méně viskózní, jak gel o iontové síle 0,5 M. Dále byla pozorována čírost hydrogelu, a bylo zjištěno, že hydrogely s iontovou silou nad 0,15 M jsou čiré i bez použití odstředění. V případě tvorby gelů o konkrétních iontových silách 0,15 M a 0,3 M vytvořených přidavkem vícemocných kationtů/aniontů lze na základě pozorování říci, že iontová síla v případě tohoto způsobu přípravy gelů nehraje roli.

## **ABSTRACT**

This work is focused on testing the effect of ionic strength on the preparation of hydrogels prepared by phase separation hyaluronanu polyelectrolyte solution (Hya) with cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) called „dry way“. In this case, there is a mixing of the polymer and the surfactant in the dry form and then added to the dispersion medium. With observation and rheology, the effects of the proportion of the components for the formation of the hydrogel. It was found that the higher the ionic strength causes the hydrogel has a lower viscosity and a more fluid. This fact was confirmed from the results of rheological measurements. The gel with the ionic strength of 1 M is less viscous to gel the ionic strength of 0,5 M. Next, the purity of the hydrogel was observed, and it was found that hydrogels with the ionic strength of 0,15 M are clear without the use of centrifugation. In case of getting gel of the specific ionic forces of 0,15 M and 0,3 M formed by addition of multivalent cations/anions from observations we can say that the ionic strength in the case of the method of preparation of gels does not matter.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

hyaluronan, cetyltrimethylamonium bromid, hydrogel, iontová síla, reologie

## **KEYWORDS**

hyaluronan, cetyltrimethylammonium bromide, hydrogel, ionic strength, rheology

KRATOCHVÍLOVÁ, O. *Nový způsob přípravy hydrogelů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 45 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Filip Mravec, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Ráda bych zde poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Filipu Mravcovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost, vstřícnost a čas, který mi věnoval. Dále bych také chtěla poděkovat Bc. Tomáši Velcerovi, za jeho čas a rady při řešení experimentální části. V neposlední řadě patří velké poděkování mé rodině a přátelům, kteří mě při studiu podporovali, za jejich optimismus, lásku a trpělivost, kterou mě obklopují.*

# OBSAH

1	ÚVOD .....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	8
2.1	Zařazení gelů do disperzních soustav .....	8
2.1.1	Vznik gelů .....	9
2.1.2	Faktory ovlivňující gelaci.....	10
2.1.3	Klasifikace gelů.....	10
2.1.4	Vlastnosti gelových materiálů .....	11
2.1.5	Využití gelů .....	11
2.1.6	Hydrogely.....	12
2.2	Hyaluronan .....	12
2.2.1	Struktura .....	12
2.2.2	Izolace .....	13
2.2.3	Význam a výskyt v organismu .....	14
2.3	Tenzidy .....	14
2.3.1	Struktura tenzidů .....	14
2.3.2	CTAB .....	15
2.4	Reologie.....	15
2.4.1	Newtonské kapaliny .....	16
2.4.2	Nenewtonské kapaliny .....	16
2.4.3	Měření viskozity a reologických vlastností.....	17
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	19
3.1	Fyzikálně síťované biokompatibilní hydrogely .....	19
3.2	Aplikace hydrogelů.....	20
3.3	Interakce hyaluronan-tenzid .....	20
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	21
4.1	Použité chemikálie.....	21
4.2	Použité metody .....	21
4.2.1	Příprava gelů metodou suché cesty .....	21
4.2.1.1	Příprava gelů o různých iontových silách .....	21
4.2.1.2	Příprava gelů o iontové síle 0,15 M použitím vícemocných kationtů/aniontů.....	22
4.2.1.3	Příprava gelů o iontové síle 0,3 M použitím vícemocných kationtů/aniontů.....	22
4.2.2	Reologická měření.....	23
5	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	26

5.1	Vizuální pozorování vlivu různých iontových sil na vznik hydrogelu.....	26
5.2	Vizuální pozorování hydrogelů o iontové síle 0,15 M za použití různých iontů .....	28
5.3	Vizuální pozorování hydrogelů o iontové síle 0,3 M za použití různých iontů .....	30
5.4	Reologická měření.....	32
5.4.1	Vyhodnocení oscilačních testů.....	32
5.4.2	Vyhodnocení frekvenčních testů.....	35
5.4.3	Vyhodnocení tokových testů.....	37
6	ZÁVĚR.....	39
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	40
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....	45
8.1	Seznam použitých zkratek .....	45
8.2	Seznam použitých symbolů .....	45

# 1 ÚVOD

Díky své jedinečné vlastnosti, jako je vysoký obsah vody, měkkost, pružnost a biokompabilita se staly hydrogely velmi populárními. Můžeme je popsat jako trojrozměrnou síť hydrofilního charakteru, jejichž nanoskopická struktura je schopna pojmout až 99% vody. Hydrogel je odborně definován jako dvou nebo vícesložková soustava prostorové sítě polymerních řetězců a vody, která vyplňuje místo mezi makromolekulami. Přirozeně se hydrogely vyskytují jako polymerní sítě kolagenu nebo želatiny, případně mohou být uměle syntetizovány. Jsou to velice slibné biomateriály, které při kontaktu s krví, tělními tekutinami a tkání projevují dobrou biokompatibilitu. Hydrogely mají největší využití v biomedicíně. Jsou běžně používány například pro výrobu kontaktních čoček, tkáňovém inženýrství nebo jako polymerní nosiče pro cílenou distribuci léčiv.

Tato práce si klade za cíl alespoň částečně prozkoumat vliv iontové síly na tvorbu hydrogelů na bázi hyaluronan – CTAB, přičemž k jeho tvorbě je použita metoda tzv. suché cesty, kdy se výchozí ingredience smíchají v práškové formě a až následně je přidáno disperzní prostředí. Práce navazuje na dřívější výzkum, kdy byla studována fázová separace a vzniklý hydrogel smísením roztoků polymeru a opačně nabitého tenzidu. Výhodami přípravy hydrogelů metodou tzv. suché cesty je sterilizace a možnost dosáhnout vyšších koncentrací. U připravených hydrogelů je provedena senzorická analýza a rovněž jsou reologicky testovány mechanické vlastnosti těchto hydrogelů.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Zařazení gelů do disperzních soustav

Pojem „gel“ označuje systém tvořený trojrozměrnou sítí. Gely disponují elastickými vlastnostmi a řadíme je do tzv. disperzních soustav [1]. Disperzní soustavou rozumíme termodynamický systém tvořený minimálně ze dvou vzájemně nemísitelných fází, přičemž jedna z fází zahrnuje disperzní prostředí (dispergens) a zabírá majoritní část objemového podílu. Druhá fáze je pak dispergovaná látka (disperzum, disperzní podíl), jejíž skupenství může nabývat pevné, kapalné či plynné podoby a je rozptýlena v disperzním prostředí. Disperzní podíl je tedy rozptýlen v disperzním prostředí ve formě více či méně jemných částic [2].

Na základě různých kritérií lze rozdělit disperzní soustavu do několika skupin a to podle [3]:

- počtu fází, které ji tvoří na homogenní (tvořena jednou fází zahrnující disperzní podíl i disperzní prostředí) a heterogenní (disperzní podíl a disperzní prostředí je odděleno fázovým rozhraním)
- velikosti částic disperzního podílu (lineárního rozměru  $d$ ) na analytické disperze ( $d < 10^{-9}$  m – pravé roztoky), koloidní disperze ( $10^{-9}$  m  $< d < 10^{-6}$  m) a hrubé disperze ( $d > 10^{-6}$  m)
- počtu molekul obsažených v částici disperzního podílu na systémy molekulární a systémy polymolekulární
- tvaru částic na globulární disperzní, laminárně disperzní a fibrilárně disperzní
- struktury disperzního podílu na systémy s disperzním podílem ve formě částic a systémy tvořící souvislou prostorovou síť prostupující kapalným disperzním prostředím pomocí částic disperzního podílu (gely)
- rozdělení velikosti částic na monodisperzní (uniformní), paucidisperzní a polydisperzní (neuniformní)

Tabulka 1: Dělení disperzních soustav podle disperzního prostředí [3]:

Disperzní prostředí	Disperzní podíl	Disperze	
		Koloidní	Hrubě disperzní
plynné	plynný	–	–
	kapalný	aerosoly (mlha)	děšť
	pevný	aerosoly (dým)	kouř
kapalné	plynný	pěny	bublina, pěna
	kapalný	emulze	emulze
	<b>pevný</b>	<b>lyosoly</b>	<b>suspenze, gel</b>
pevné	plynný	tuhé pěny	minerály s uzavřenými plyny
	kapalný	tuhé emulze	minerály s uzavřenými kapičkami
	pevný	tuhé soly	tuhé směsi, např. eutektika



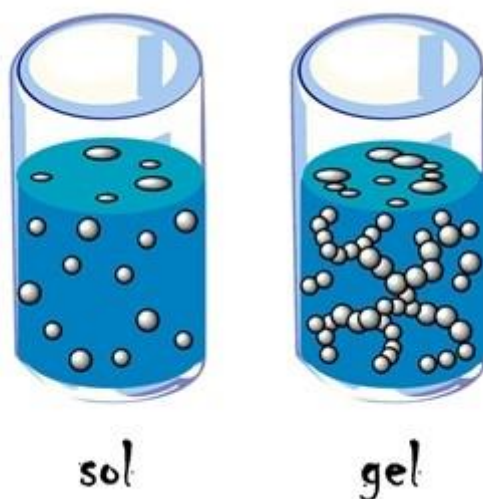
Jak je z Tab. 1 patrné, gely jsou disperze pevných látek v kapalině. Velikost disperzních částic, jejichž spojováním vzniká síťovitá struktura gelu, bývá koloidní. Tyto disperzní částice nejsou schopné se nezávisle pohybovat v disperzním prostředí a vykonávají pouze vibrační pohyby. Disperzní částice jsou v disperzním prostředí pevně poutány díky adhézním silám, které vykazují buď fyzikální, nebo chemický charakter [1].

### 2.1.1 Vznik gelů

Gelace je proces, při kterém vznikají gely, přičemž dochází ke spojování koloidních částic disperzního podílu a postupně se vytváří zpevňující se prostorná síť [4]. Dostatečný počet uzlů mezi makromolekulami je předpokladem ke vzniku sítě. Ke gelaci dochází jedním z těchto tří procesů.

Pokud dojde ke vzniku chemickou reakcí, pak dostáváme kovalentně zesíťované gely. K tomu dochází buď polymerací monomerů, nebo zesíťováním hotových polymerů za přítomnosti vhodného činidla, přičemž takhle vzniklé gely mají pevnou strukturu. Pokud ke vzniku dochází změnou fyzikálních podmínek např. změna pH, změna iontové síly nebo změna rozpouštědla, pak vznikají fyzikálně síťované gely. Síly působící na polymerní řetězce u těchto fyzikálně zesíťovaných gelů mohou být např. van der Waalsovy síly, vodíkové můstky nebo polární síly [5].

Třetím procesem vzniku gelů je bobtnání xerogelu. Tento vysušený gel může přijímat značné množství kapaliny a zvětšovat svůj objem. K zastavení bobtnání dochází při určitém obsahu kapaliny, což nazýváme omezeným bobtnáním nebo bobtnání pokračuje až do vytvoření solu, což označujeme jako neomezené bobtnání. Pojem sol rozumíme koloidní suspenzi, která může být přeměněna na pevnou látku (gel) [6]. Přeměna solu na gel je znázorněna na Obr. 1.



Obr. 1: Přeměna solu na gel [7]

Bobtnání xerogelu lze provést výhradně u gelů reverzibilních dodáním disperzního prostředí, v případě hydrogelů tedy přidáním vody. Bodem gelace nazýváme okamžik, tedy relativně krátký časový úsek, při němž dochází k vytvoření nekonečné trojrozměrné sítě, což můžeme charakterizovat tak, že rozměry vzniklé sítě jsou shodné s rozměry makroskopické gelové fáze. V bodě gelace je váhový podíl stále nepatrný, ale rychle se v průběhu zvětšuje (dochází k růstu hmotnosti gelového podílu na úkor rozpustného podílu) [8].

### 2.1.2 Faktory ovlivňující gelaci

V případě gelatinizace u reverzibilních gelů, hraje podstatnou roli ovlivňující gelaci teplota a to z toho hlediska, že čím vyšší je teplota, tím rychleji se pohybují molekuly v roztoku a tím pádem dochází ke snížení počtu pevných vazeb mezi makromolekulami. Je tedy možné konstatovat, že zvyšující se teplota brání vzniku gelu. Termoreverzibilní, nazýváme takové gely, které lze zahříváním převést na roztok a ochlazením zpátky na gel. Dalším faktorem ovlivňujícím gelaci je vliv pH. Jako optimální pH pro vznik gelové sítě se považuje takové pH odpovídající izoelektrickému bodu makromolekuly, která je pro vznik gelu použita. Gelace může být taktéž urychlena zvýšením koncentrace, neboť dojde ke zvýšení rychlosti tvorby gelu díky větší četnosti srážek makromolekul a současně má koncentrace vliv na jeho pevnost, protože dojde ke zvýšení počtu kontaktů [9].

V případě botnění reverzibilních gelů dochází k urychlení procesu se zvyšující se teplotou. Bobtnavost gelů, které mají elektrolytický charakter je značně ovlivněna přítomností elektrolytů a hodnotou pH, jelikož s přítomností elektrolytů se bobtnavost zvyšuje.

V případě gelatinizace u irverzibilních gelů zvýšení teploty vede ke zvýšení rychlosti gelatinizace. Mechanické působení na vznik gelu může mít jak pozitivní, tak negativní vliv. Avšak negativní vliv obvykle převládá. Ke značnému urychlení tvorby gelu mechanickým působením dochází u agregátně nestálých solů se silně anizometrickými částicemi [1].

### 2.1.3 Klasifikace gelů

Na základě obsahu disperzního prostředí se gely dělí na [5]:

*Lyogely* – gely, obsahující kapalné disperzní prostředí. Je-li disperzním prostředím voda, označujeme je jako hydrogely. Je-li disperzním prostředím organická kapalina, označujeme je jako organogely.

*Xerogely* – gely, neobsahující disperzní prostředí, tedy vzniklé jeho odstraněním. Vznikají např. vysušením lyogelů a obsahují pouze disperzní podíl.

Nejčastěji však gely klasifikujeme na základě chování ve vysušeném stavu:

*Reverzibilní gely* – při vysušení dochází ke zmenšení jejich objemu a vzniku kompaktních xerogelů. Přijímáním disperzního prostředí, tzv. botnáním jsou xerogely schopny přecházet opět do původního stavu lyogelu. Těmito vlastnostmi disponují makromolekulární gely. Reverzibilní gely mohou tedy vznikat gelatinizací roztoků vysokomolekulárních látek nebo již zmíněným botnáním xerogelu.

*Ireverzibilní gely* – při vysušení nedochází ke zmenšení jejich objemu a získáváme tedy prakticky stejný objem, jako měl původní lyogel. Charakteristické pro tento typ gelů je vznik porézního xerogelu. Navzdory schopnosti sorbovat určité množství kapaliny při styku s disperzním prostředím, nedochází k návratu do původního stavu. Jedná se tedy o proces nevratný a tyto gely nejčastěji vznikají gelatinizací lyofobních solů.

## 2.1.4 Vlastnosti gelových materiálů

### Mechanické vlastnosti

Ačkoliv je disperzní prostředí kapalné, gely v důsledku svého uspořádání disponují mechanickými vlastnostmi, které jsou charakteristické pro tuhý stav. Gely jsou schopny do určité hodnoty tečného napětí (hodnota kritického napětí) odolávat určitému mechanickému napětí. Hodnota kritického napětí závisí na koncentraci a pevnosti uzlů ve struktuře gelu. Pod hodnotou odpovídající kritickému napětí se gely chovají jako tuhá elastická tělesa. Po překročení této hodnoty se gel začne chovat jako viskózní kapalina, přičemž dochází k nevratné deformaci vnitřní struktury a ztrátě elasticity. Gelové systémy tedy vykazují typické chování viskoelastického charakteru.

Viskozita viskoelastického materiálu je při nízkých smykových rychlostech konstantní stejně jako u modelového kapalného tělesa. K poklesu viskozity dochází při vysokých smykových rychlostech, přičemž viskoelastický materiál začne vykazovat chování tuhého tělesa.

Gely s kovalentními spoji, obsahující v jednotce objemu malý počet vazeb jsou obvykle značně elastické. S narůstajícím počtem vazeb mezi řetězci polymeru se snižuje možnost změny tvaru makromolekuly a tím rigidnější se pak vzniklá prostorová síť stává [8].

Gely s fyzikálními spoji (reverzibilní i ireverzibilní) se často vyznačují tixotropními vlastnostmi. Podstatou tohoto jevu je obnovování původních struktur. Pokud jsou původní disperzní částice do síťované struktury poutány pomocí velmi slabých sil, je možné gel více či méně prudkým protřepáním převést opět do stavu solu, jelikož mechanickými účinky dojde ke zrušení slabých vazeb mezi částicemi. Necháme-li stát tekutý sol v klidu, začnou se vazby mezi částicemi obnovovat, dochází opět ke zgelování tohoto systému a viskozita tedy nabývá postupně původních hodnot. Opačným jevem je reopexie [1].

### Synereze

Tento jev nastává především u čerstvě připravených gelů (reverzibilních i ireverzibilních). Při stárnutí gelu důsledkem smršťování síťovité struktury dochází k samovolnému vytékání kapaliny z gelu. Roste počet styčných bodů, síťovitá struktura se smršťuje a s ní celý gel. Zároveň dochází k vytlačování přebytečné kapaliny (disperzního prostředí), která nebyla do struktury gelu zabudována. Synereze je podporována zvýšením teploty a u spousty gelů rovněž přidávkou elektrolytu [10].

### Anizotropie gelů

Anizotropie je dána podmínkami tvorby gelů a vykazuje ji většina gelů vyskytujících se v živočišných tělech nebo rostlinách. U gelů připravených uměle je obvykle důvodem anizotropie jejich nerovnoměrná deformace při tvorbě nebo nerovnoměrná objemová kontrakce při vysoušení, přičemž vlastnosti jako je smršťování při sušení, roztažnost při bobtnání, ale také optické a mechanické vlastnosti jsou v různých směrech různé [11].

## 2.1.5 Využití gelů

Značné využití gely nacházejí hned v několika odvětvích jako je farmacie, kosmetika, potravinářství a řada dalších. V oblasti farmacie nacházejí využití jakožto transportní média pro různé látky např. heparin, které chceme do lidského organismu dopravit [12]. V dnešní době je

pozornost farmaceutického výzkumu soustředěna především na hydrofilní gely, jelikož tato forma se jeví pro vývoj moderních léků založených na systémech s prodlouženým a řízeným uvolňováním jako perspektivní [13]. V potravinářském průmyslu nacházejí gely hojně využití jako želatinizační činidla, což nám umožňuje vytvářet na dané surovině průhlednou vrstvu gelu nebo jako různá zahušťovadla apod.

Další využití přináší tzv. smart gels (inteligentní gely). Tyto gely mají schopnost reagovat na jakoukoliv třeba jen nepatrnou změnu teploty, pH, iontové síly, napětí, tlaku a to relativně velkou, reverzibilní změnou objemu či průhlednosti. Mohou být uplatněny jakožto senzory, čidla, systémy kontrolovaného uvolňování léčiv, materiály mající funkci membrán nebo umělé svaly atd. Dále se jejich využití nachází při čištění ropných skvrn a v oblasti bioinženýrství [14].

### 2.1.6 Hydrogely

Gely jako takové jsem již popsala v předcházejících kapitolách, s tímto pojmem se však běžně setkáváme v každodenním životě, aniž bychom to třeba vůbec tušili, vyskytuje se všude kolem nás. Hydrogel je totiž přímo součástí našeho těla. Tvoří pojivové tkáně, oči (sklivce a rohovku), pokrývá vnitřní povrchy traktů, jako jsou žaludek a plíce. Pravděpodobně z důvodu vysokého obsahu gelových tkání v našem těle, může tvořit voda až dvě třetiny jeho celkové hmotnosti.

Jako vhodná sloučenina ke tvorbě hydrogelů se jeví kyselina hyaluronová, jelikož se jedná o hydrofilní látku, která je na sebe schopna vázat vodu. Takto vzniklé hydrogely na bázi kyseliny hyaluronové se hodí pro léčbu chronických onemocnění u pacientů s poruchou hojení ran, zvláště pak u onemocnění diabetes [15].

Hydrogely lze obecně definovat jako trojrozměrnou síť hydrofilního charakteru, jejichž nanoskopická struktura je schopna pojmout až 99% vody. Množství vody, které je hydrogel schopen pojmout, závisí na jeho savosti a rovněž na jeho hydrofilních skupinách. Důsledkem jejich uspořádání nejsou hydrogely obvykle příliš rozpustné. Přirozeně se hydrogely vyskytují jako polymerní síť (kolagen, želatina) nebo mohou být uměle syntetizovány. Hydrogely mohou měnit svůj objem v závislosti na změně prostředí. Faktory vyvolávající tuto změnu prostředí jsou teplota, pH a iontová síla [16].

Hydrogely se v současné době těší velké oblibě a to zvláště pak díky jejich biokompatibilitě při styku s krví, tělními tekutinami nebo tkáněmi. Největší uplatnění nacházejí v biomedicíně, kde jsou používány např. pro výrobu kontaktních čoček, tkáňovém inženýrství nebo jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním [17].

## 2.2 Hyaluronan

Kyselina hyaluronová, jejíž název pochází z řeckého výrazu pro sklo „hyalos“ a uronové kyseliny, byla poprvé izolována v roce 1934 Karlem Meyrem a Johnem Palmerem z hovězího sklivce [18].

Tento biopolymer je přirozenou složkou lidského těla, nachází se v mezibuněčné hmotě, zabezpečuje hydrataci pokožky a najdeme jej i v našem oku. Rovněž je složkou vaziva a zajišťuje tak našim kloubům hladký pohyb. Pro svoji univerzálnost se hojně využívá ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu [19].

### 2.2.1 Struktura

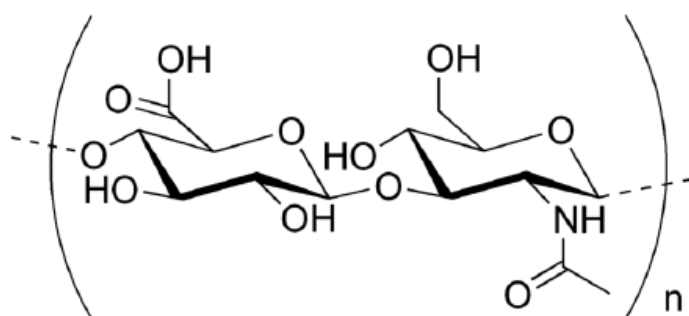
Z chemického hlediska se jedná o lineárně nerozvětvený polysacharid, jenž se liší biologickým působením v závislosti na své molekulové hmotnosti [19]. Tento polysacharid se skládá z opakujících se disacharidových jednotek kyseliny-D-glukonové a

N - acetylglukosaminu vázaných střídavě  $\beta$ -1,4 a  $\beta$ -1,3 glykosidickými vazbami, objevuje se u savců a některých mikroorganismů v podobě sodné nebo draselné soli. Jeho strukturní vzorec je uveden na Obr. 2.

Výhodná sterická organizace zajišťuje energetickou stabilitu disacharidové jednotky a to tak, že objemné skupiny jsou situovány v ekvatoriální rovině, kdežto malé vodíky jsou v energeticky méně výhodné axiální rovině.

Jestliže není hyaluronan poután na jiné molekuly, poutá na sebe vodu a utváří značně viskózní roztoky. Oporou molekuly jsou vodíkové můstky ve fyziologickém roztoku. Poměrně hydrofobní část představují nepolární axiální vodíky, zatímco hydrofilní část polární ekvatoriální boční řetězce [18]. V roztoku se jeví jako polyanion, pH prostředí udává jeho chování [20].

Tzv. náhodně stočená struktura je tvořena v závislosti na organizaci. Náhodnost je potlačena vlastnostmi vazeb v molekule. Řetězec hyaluronanu zahrnuje několik druhů vazeb. Forma cukerných zbytků je udržována díky vazbám v cukerných kruzích, které jsou kovalentní a téměř konstantní. Vodíkové můstky zajišťují stabilizaci glykosidické vazby, jež spojuje kovalentně přes atom kyslíku cukerné zbytky mezi sebou. Ke kyslíku jsou z obou stran navázané substituenty, které mohou rotovat o  $360^\circ$ . Ačkoli molekulární simulace odhalila, že v okolí této vazby nemají cukerné jednotky zcela naprostou svobodu rotace, nachází se zde pár variant konfigurace na každém glykosidickém můstku. Kvůli počtu těchto můstků na celém řetězci se zdá tato stočená struktura jako náhodná, ale není tomu tak. Na molekule jsou hydrofobní oblasti, díky nimž má možnost se poutat na fosfolipidy. Hyaluronan se aktivně účastní buněčné adheze, proliferace neboli hojného množení a ostatních buněčných procesů. Pokud řetězec hyaluronanu mezi sebou projeví reakci, mohou vytvořit síťované struktury [21].



Obr. 2: Struktura monomeru kyseliny hyaluronové [22]

## 2.2.2 Izolace

Existují možnosti izolace kyseliny hyaluronové z několika zdrojů. Je obsažena v pupeční šnůře, synoviální tekutině, kohoutích hřebínkách, očích tučňáků nebo žraločí kůži.

Problém je, že hyaluronan se neobjevuje samostatně, ale je obklopen množstvím jiných molekul, což zahrnuje třeba proteiny, bakteriální endotoxiny, nukleové kyseliny, chondroitin sulfát a řadu dalších. Asi ekonomicky nejvýhodnějším zdrojem je však použít fermentaci bakterií rodu *Streptococcus zooepidemicus* nebo *Streptococcus equi* [23]. Faktem je, že tyto bakterie si vytvářejí z hyaluronanu kapsuly. Takto uměle vyrobený hyaluronan je pro tělo obratlovce k nerozeznání od vlastního.

To poskytuje bakteriím nepozorovaně napadnout a rozmnožovat se v hostitelském organismu bez ohrožení imunitního systému daného organismu. Hyaluronan o značně vysoké čistotě a vysoké molekulové hmotnosti, lze získat genetickou úpravou těchto bakterií na

nepatogenní, bude-li bez obsahu glykoaminoglykanů a proteinů živočišného původu, které jsou primární složkou nečistot [24].

Dynamický charakter vykazuje metabolismus hyaluronanu v organismech, včetně lidského. Dochází ke stálému vyvažování pro zachování jeho koncentrace mezi syntézou a degradací. Na syntéze kyseliny hyaluronové v organismu savců se podílí tři různé fermenty - hyaluronansyntáza (HAS1, HAS2, HAS3). K průběhu syntézy dochází v plasmatické membráně buňky na rozdíl od ostatních glykosaminoglykanů, mezi něž hyaluronan řadíme a syntetizují se v Golgiho aparátu. Zvětšující se polymer je vytlačen do extracelulární matrix, díky enzymu v buněčné membráně, jenž střídavě poutá k řetězci jednotlivé monosacharidové jednotky. Zde je mu umožněno vytvářet komplexy s ostatními látkami, např. proteiny [25][26].

Degradace je pak uskutečněna díky třem druhům enzymů: hyaluronidáza,  $\beta$ -D-glukosonidáza a  $\beta$ -N-acetyl-hexosaminidáza. Za nárůst nových cév jsou odpovědné produkty degradace [18].

### 2.2.3 Význam a výskyt v organismu

Kyselina hyaluronová se bezprostředně vyskytuje v lidských tkáních v podobě sodné a draselné soli, jakožto součást extracelulární matrix. Vysoký obsah této substance je obsažen v naší kůži, kde zaujímá úlohu hydratace a organizace tkáně. Vyskytuje se jako hlavní složka např. v oční sklivci, kde zabezpečuje korektní optickou refrakci oka při zobrazení obrazu na sítnici. Je významnou složkou chrupavek. V synoviální tekutině eliminuje tření a tlumí nárazy kloubů. Rovněž je obsazena v pupeční šňůře.

Její další úlohou je odhalování aktivity volných radikálů, podpora buněčné migrace, angiogeneze, hojení ran a především tvorba nové granulační tkáně v průběhu zánětu [27][28]. Jeho úloha v lidském těle zahrnuje zadržování vody a zvlhčení pohyblivých se částí těla, jakožto např. klouby a svaly. Hyaluronan se využívá ve spoustě medicínských oborech, např. doplňování mezikloubné tekutiny, při hojení ran, jako nástroj v oční chirurgii a taktéž v cílené distribuci léčiv, jelikož se jedná o jednu z nejvíc hydrofilních molekul nacházejících se v přírodě. Je jedinečný díky své viskoelasticitě a biokompatibilitě [18][24]. Nízkomolekulární hyaluronan se prosazuje např. v kosmetice [29]. Vysokomolekulární hyaluronan funguje jako lubrikant a v chrupavkách a mezikloubních prostorech tak omezuje bolestivé projevy různých kloubních onemocnění [30].

## 2.3 Tenzidy

Termínem tenzidy se označují skupiny organických látek, jejichž společným znakem je fakt, že při nízké koncentraci v systému jsou schopny hromadit se na mezifázovém rozhraní a tak snižovat jeho povrchové napětí. Fázovým rozhraním myslíme plochu, která rozděluje dvě fáze a to kapalina/kapalina, kapalina/pevná látka nebo kapalina/plyn.

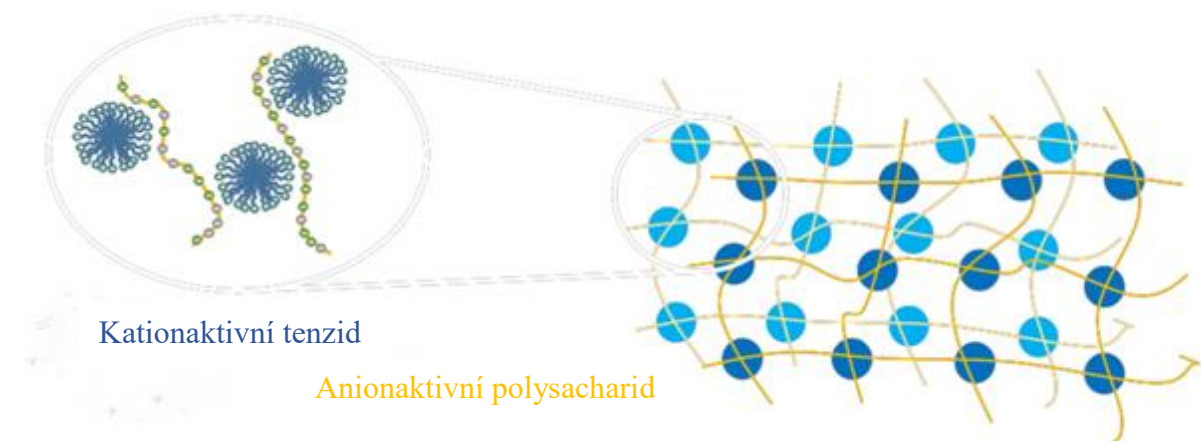
Molekuly tenzidů se shlukují na fázovém rozhraní tak, že molekuly tenzidů pronikají na povrch kapalné fáze (rozpouštědla), kde se adsorbují na rozhraní dvou fází a vytvoří monomolekulární vrstvu. Ke snižování povrchového napětí lze docílit zvýšením koncentrace rozpouštěného tenzidu [31].

### 2.3.1 Struktura tenzidů

Molekula tenzidů je složena se dvou skupin, lyofilní (ve vodě hydrofilní) části, jenž obsahuje polární skupiny a lyofobní (hydrofobní) části, jenž zahrnuje dlouhé uhlovodíkové řetězce. Tato amfifilní (obojetná) struktura tenzidu je odpovědná tendenci agregace v roztoku a tvorbu

micel a to po úplném nasycení povrchu kapaliny, kdy dojde k dosažení tzv. kritické micelární koncentrace [32].

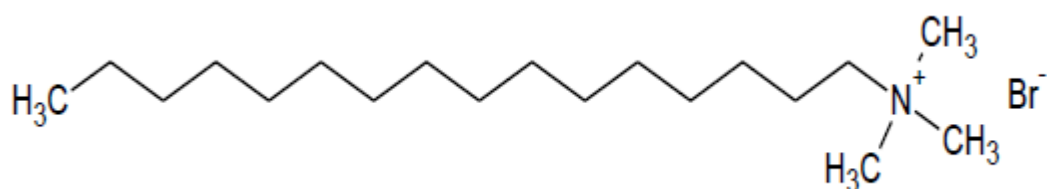
Jestliže je molekula schopna disociace neboli štěpení, je tenzid ionogenní. Pokud odštěpuje proton a jinak nese záporný náboj, je anionaktivní a kationaktivní je, když proton přijímá z okolí. Charakter hydrofilní částí tedy tenzidy dělí na anionaktivní, kationaktivní a amfoterní [33]. Pro představu je na Obr. 3 uvedena interakce tenzidu s polymerem.



Obr. 3: Interakce tenzidu s polymerem

### 2.3.2 CTAB

Cetyltrimethylamonium bromid (CTAB) nese kladný náboj na dusíku a patří tedy mezi kationaktivní tenzidy. Vyskytuje se ve formě kvarterní amoniové soli. Používá se k tvorbě hydrogelů, jenž vytváří s hyaluronem. Ve vyšších koncentracích je toxický [33]. Strukturní vzorec CTAB je uveden na Obr. 4.



Obr. 4: Strukturní vzorec cetyltrimethylamonium bromidu

## 2.4 Reologie

Termín reologie je odvozen ze dvou řeckých slov a to „rheo“, což znamená téci a „logos“ studovat. Zakladateli této mezioborové vědy jsou chemik Eugene Cook Bingham a stavební inženýr Markus Reiner. Tento vědní obor se zabývá studiem toku a deformace, konkrétně studiem základních vztahů mezi silou a deformací v materiálech [34].

Reometr je přístroj, který se používá na měření reologických vlastností celé řady materiálů. Pomocí reometru je měřený vzorek deformován buď otáčením rotujícího senzoru, který může mít různý tvar – válec, kužel, deska nebo oscilačními pohyby senzoru. Rotací senzoru dostáváme informace především o viskozitě a tokových vlastnostech daného vzorku, zatímco o míře elasticity vzorku dostáváme informace oscilací senzoru [35].

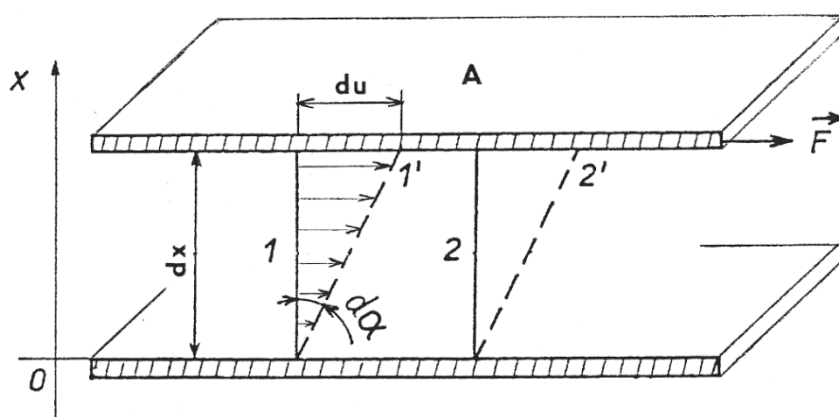
Zaměříme-li se na kapaliny, můžeme je rozdělit do dvou základních skupin.

### 2.4.1 Newtonské kapaliny

V případě ideálně viskózní kapaliny platí pro tečné napětí klasický Newtonův zákon.

$$\tau = \eta \cdot \frac{du}{dx} = \eta \cdot D \quad (1)$$

Kde součinitel  $\eta$  je dynamická viskozita, která charakterizuje vnitřní tření newtonovské kapaliny,  $du$  je vzájemná rychlost pohybu smykových rovin o  $dx$  a  $D$  je smyková rychlost, která charakterizuje tvarové změny v proudící tekutině [36].



Obr. 5: Rychlostní profil toku v kapalině mezi nepohyblivou (spodní) a pohybující se deskou [36]

Dynamická viskozita je závislá na teplotě a tlaku. U kapalin s teplotou klesá, na rozdíl od plynů, kde roste. Podíl dynamické viskozity a hustoty kapaliny nám vyjadřuje viskozitu kinematickou.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \quad (2)$$

Nízkomolekulární kapaliny jako je voda nebo olej podléhají Newtonovu zákonu a nazývají se tedy „newtonské“. U těchto ideálně viskózních kapalin dochází k disipaci veškeré vložené mechanické energie při jejich namáhání na teplo. Viskozita těchto tekutin nezávisí na vazkém napětí [36].

### 2.4.2 Nenewtonské kapaliny

Vedle newtonských kapalin existují reologicky složitější kapaliny, které se Newtonovým zákonem neřídí a nazýváme je tedy, kapalinami nenewtonskými.

Tyto kapaliny zahrnují substance, jako jsou polymerní roztoky, disperzní roztoky a barviva, konkrétně synoviální tekutina, krev a taveniny. Tyto viskózní nenewtonské kapaliny, jejichž viskozita není konstantní, jsme schopni popsat pomocí závislosti tečného napětí na smykové rychlosti.

$$\tau = \eta_0 \cdot D \quad (3)$$



Kde označujeme  $\eta_0$  jako tzv. zdánlivou viskozitu, která není látkovou konstantou, ale je závislá na rychlosti deformace nebo tečném napětí [36]. Schématické znázornění některých příčin je na následujícím obrázku.

Nenewtonské kapaliny lze dělit na základě jejich chování, na kapaliny:

1. u kterých zdánlivá viskozita závisí na smykové rychlosti

*Pseudoplastická kapalina* – dochází k poklesu zdánlivé viskozity s rostoucí smykovou rychlostí. Charakteristické pro koncentrované polymerní roztoky.

*Diletantní kapaliny* – dochází k růstu zdánlivé viskozity s rostoucí smykovou rychlostí. Charakteristické pro heterogenní systémy, u nichž dochází se zvyšující se smykovou rychlostí zároveň k růstu viskozity.

2. vykazující mez toku

*Binghamské kapaliny* - v případě, že smykové napětí je vyšší než mez toku, pouze tehdy mají minimální smykovou rychlost. Pokud dojde k překročení meze toku smykovým napětím, binghamská kapalina změní svoje chování v newtonské.

3. jejichž zdánlivá viskozita je časově závislá

*Tixotropní kapalina* – dochází k poklesu zdánlivé viskozity s dobou působení smykového napětí. Pokud přestane smykové napětí působit, zdánlivá viskozita opět vzroste.

*Reopexní kapalina* – dochází k růstu zdánlivé viskozity s dobou působení smykového napětí a k následovnému poklesu, ve chvíli kdy smykové napětí přestane působit [37].

### 2.4.3 Měření viskozity a reologických vlastností

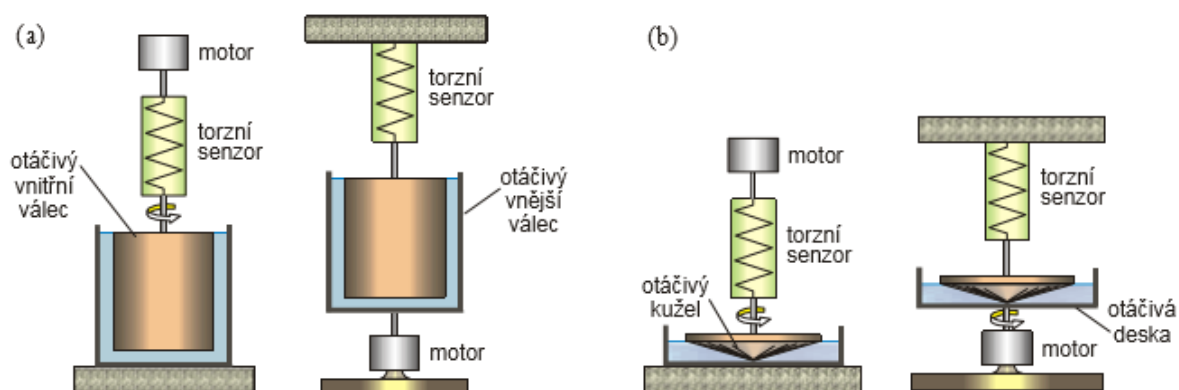
K měření viskozity se v praxi běžně používají různé typy viskozimetrů - průtokové, pádové a rotační, a to v závislosti na různorodých vlastnostech látek.

Průtokové viskozimetry jsou založeny na měření objemového průtoku kapaliny trubicí, jejíž rozměry jsou definovány. Výchozím principem je Poiseuilleova rovnice pro laminární výtoku kapaliny z kolmé trubice kruhového průřezu vlastní hmotností. U pádového viskozimetru se viskozita kapaliny určuje na základě měření rychlosti pádu známého tělesa v kapalině.

Dostatečnou charakterizaci tokových vlastností nenewtonských kapalin nám poskytují pouze rotační viskozimetry. Skládají se ze dvou hlavních částí, přičemž jedna se otáčí úhlovou rychlostí a druhá je statická. Otáčivý moment je přenášen vnitřním třením kapaliny na druhý válec, zavěšený na torzním vlákně. Úhel pootočení válce  $\varphi$  se měří po ustavení rovnováhy od původní polohy a je úměrný úhlové rychlosti vnějšího válce  $\omega$  a viskozitě kapaliny ( $k$  je konstanta přístroje).

$$\varphi = k \cdot \eta \cdot \omega \quad (4)$$

Obvyklou geometrií rotačních viskozimetrů jsou dva soustředěné válce, ale lze použít i geometrii kužel – deska nebo deska – deska. Jejich konfigurace je vybírána na základě konzistence vzorku [6]. Příklady některých geometrií rotačních viskozimetrů jsou uvedeny na Obr. 6.



Obr. 6: Rotační viskozimetry (a - Couettův – dva válce, b - Searleův – kužel/deska)[6]

### 3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Biokompatibilita materiálu je základním předpokladem pro jeho využití v medicíně. Tento pojem zahrnuje materiály a to přírodní, syntetické nebo jejich kombinaci, které přicházejí do styku s živou tkání či tekutinami biologického charakteru. Podle místa jeho aplikace, jsou od něj vyžadovány různé předpoklady [38]. Na jeho složení a vlastnosti, ať už chemické, fyzikální či mechanické je kladen značný důraz, jelikož nesmí způsobovat žádné nežádoucí účinky jako např. záněty, alergie nebo dráždivost. Hydrogely se v tomhle ohledu jeví jako ideální materiál vzhledem k jejich hydrofilní, měkké a pružné povaze. Rovněž nesmí mít vliv na srážlivost krve, utlumovat a měnit funkci organismu, způsobovat změny imunologického, karcinogenního, mutagenního či teratogenního charakteru [39].

Hydrogely jsou široce rozšířeny a nalezneme je v produktech, které každodenně používáme, ačkoliv jejich potenciál nebyl ještě zcela prozkoumán. Tyto biokompatibilní materiály se běžně používají v kontaktních čočkách, hygienických výrobcích a obvazech, avšak komerční využití hydrogelových výrobků v tkáňovém inženýrství a při podání léčiv je stále omezené. Bylo navrženo, studováno a v některých případech i patentováno mnoho hydrogelů na bázi cílených nosičů léčiv a „lešení“ v tkáňovém inženýrství, ale mnoho z nich se nedostalo na trh. Avšak je očekáván další pokrok v těchto dvou oblastech. Omezení komerčních produktů obsahujících hydrogely je spojeno do určité míry s vysokými výrobními náklady [40].

#### 3.1 Fyzikálně síťované biokompatibilní hydrogely

Zvýšený zájem o fyzikálně síťované hydrogely je v současné době díky absenci síťovadel používaných pro syntézu [41].

S. Sasaki a spol. se v roce 2016 zabývali fyzikálně síťovanými PVA hydrogely. Tyto polyvinylalkoholové gely jsou biokompatibilní s lidským organismem. Díky vynikajícím třecím vlastnostem se jeví v oblasti medicíny jako slibné materiály a to ve spojení s umělými chrupavkami. Ve své studii zkoumali třecí vlastnosti těchto PVA gelů připravených třemi způsoby. První způsob přípravy zahrnoval zmrazení a následné rozmrazení gelu, další vysušení gelu a poslední zahrnoval spojení těchto dvou způsobů předchozích, přičemž došlo tedy ke vzniku tzv. hybridního PVA hydrogelu. Pro zaručení jejich sterilizace byly všechny 3 typy těchto gelů ponechány 24 hodin v 70 % roztoku ethanolu a poté byly 48 hodin ponechány v čisté sterilní vodě. Jejich vlastnosti byly zkoumány pomocí třecích testů. Rovněž byla připravena pro srovnání simulovaná synoviální tekutina. Ukázalo se, že nejlepší třecí vlastnosti vykazuje hybridní PVA hydrogel [42].

H. Zhang a spol. se v roce 2013 zabývali fyzikálně síťovanými hydrogely připravenými na bázi polysacharidů. Přírodní polysacharidy patří mezi hojně se vyskytující, levné a obnovitelné zdroje. Mezi jejich významné vlastnosti patří biokompatibilita a biodegradabilita. Tyto hydrogely na bázi polysacharidů, byly připraveny pomocí zmrazovací a rozmrazovací techniky a to bez použití organických rozpouštědel a toxických síťovadel. Pro přípravu těchto fyzikálně síťovaných hydrogelů byly využity tyto polysacharidy: hyaluronan, karboxymethyl  $\beta$ -glukan, karboxymethyl celulóza, xanthan,  $\beta$ -glukan, mannogalaktan, škrob, maltodextriny a agaróza. Příprava fyzikálně síťovaných hydrogelů na bázi polysacharidů technikou zmrazení-rozmrazení prokázala některé vylepšené vlastnosti oproti tradičním polysacharidovým hydrogelům připravených chemickým síťováním. Takto připravené hydrogely jsou více biokompatibilní a biodegradabilní [43].

G. Song a spol. v roce 2013 popsali nový, jednoduchý způsob výroby tuhých hydrogelů, které jsou zesíťovány fyzikálně pomocí vodíkových vazeb mezi již existujícím polymerem (PVP) a na místě polymerizovaného polymeru (PAAm). Tyto tvrdé hydrogely byly připraveny zahříváním vodného roztoku akrylamidu (AAM) v přítomnosti poly(*N*-vinylpyrrolidonu) (PVP) bez použití chemických iniciátorů nebo kovalentních vazeb síťovacích činidel. Tato

metoda je univerzální a lze ji použít pro přípravu mnoha druhů hydrogelů. Mechanické zkoušky provedené na PVP in situ PAAm hydrogelech dokazují, že gely projevují značně vysokou pevnost, roztažnost a stlačitelnost. Dále bylo zjištěno, že tyto silné vodíkové vazby mezi již existujícím PVP a in situ vytvořenými PAAm řetězci přispívají k tvorbě gelu a jeho tuhosti. Místo aplikace by tento druh hydrogelů mohl nalézt v oblasti biomedicíny [44].

### 3.2 Aplikace hydrogelů

F. Ullah a spol. ve svém článku z roku 2015 popisují hydrogely jako významný soubor prostředků s neuvěřitelnými účely ve strojírenství, biologii a farmaceutických vědách. Polyelektrolytové hydrogely jsou obzvláště užitečné, protože přenášejí náboje na řetězce a vážou je s opačně nabitými druhy, tvořící daný komplex. Tento druh hydrogelů má četné uplatnění v podávání léků, bílkovinách, peptidech, pesticidech, živinách, hormonech, zemědělství, zahradnictví, biotechnologiích, mobilních konstrukcích, farmaceutických a biomedicínských aplikacích. Kationtovým polymerům je však v dnešní době věnována větší pozornost, protože jsou schopny redukovat velké struktury na menší a rovněž zahrnují negativní náboj DNA, který je potřebný pro přemístění většiny typů buněk, genů, pro rozvoj virových a nevirových vektorů DNA a dodání oligonukleotidů. Hydrogely vykazují značné změny objemu v reakci na malé změny v jejich okolí, jako jsou změny v elektrickém poli, magnetickém poli, dále mohou být tyto změny vyvolány rozpouštědly, pH, iontovou silou nebo změnou teploty [45].

### 3.3 Interakce hyaluronan-tenzid

Velice atraktivním tématem se pro spoustu vědců za poslední dobu stala příprava hydrogelů interakcí polyelektrolytu s opačně nabitým tenzidem ve vodném prostředí. Ke tvorbě hydrogelu dochází už při nízkých koncentracích tenzidu. Takto připravený gel disponuje vylepšenými vlastnostmi [46]. Aby byl gel využitelný v oblasti medicíny, musí být biokompatibilní a biodegradabilní. Obě tyto vlastnosti plní hyaluronan, a proto je využíván ke tvorbě hydrogelů. Jeho molekulární hmotnost má vliv na jeho biologické vlastnosti. Protiangiogenní a protizánětlivé účinky má Hya o vysoké molekulové hmotnosti nad 100 kDa, přesně opačný vliv má Hya o nízkých molekulových hmotnostech [47].

Práce Thalberga a Lindmanta zkoumala vzájemnou interakci mezi kationtovými tenzidy a hyaluronanem sodným v závislosti na různé délce alkylového řetězce tenzidu. Pro pozorování chování soustavy hyaluronan-kationaktivní tenzid bylo aplikováno těchto metod: fázová separace, vodivost, NMR a solubilizace barviv. Bylo prokázáno, že stačí velmi nízká koncentrace tenzidu, přičemž počet uhlíků v alkylovém řetězci tenzidu musí být minimálně deset, aby došlo k navázání tenzidu na hyaluronan. Až po dalším přidání tenzidu se agregáty stabilizují a dochází ke tvorbě volných micel, což je energeticky výhodnější. Hodnota koncentrace se nachází pod CMC a s rostoucím počtem uhlíků v řetězci hodnota koncentrace klesá. Vodivostní, solubilizační a NMR měření dokázaly, že micely s navázáním na hyaluronan mají menší velikost než volné micely tenzidu. Rovněž bylo prokázáno, že nezávisí molekulová hmotnost polymeru na interakci polymer-tenzid, a že vazba hyaluronan s tenzidem je slabší, než s jiným polyelektrolytem [48].

T. Halasová se ve své dizertační práci z roku 2013 zabývala interakcemi CTAB a hyaluronanu. Testy provedla pro CTAB o různých koncentracích a různé prostředí. Pokud se nacházíme ve vyšších koncentracích tenzidu, vzniká nám gelová fáze, která má schopnost pojmout všechnu nepolární látku. Molekulová hmotnost hyaluronanu nám určuje reologické vlastnosti gelů. Bylo potvrzeno, pomocí solubilizačních testů, že gel vzniká v přítomnosti jakékoliv látky a to bez závislosti na její hydrofilitě či hydrofobicitě, s výjimkou minerálního oleje [49].

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Použité chemikálie

Chlorid sodný	CAS: 7647-14-5, č. šarže PP/2009/06278 Lach-ner s.r.o., $M = 58,44 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Jodid draselný	CAS: 7681-11-0, č. šarže PP/2009/07679 Lach-ner s.r.o., $M = 166,01 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Bromid sodný	CAS: 7647-15-6, č. šarže 71330 Sigma Aldrich, $M = 102,9 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Chlorid vápenatý	č. šarže 30984 0802, LACHEMA, a.s., $M = 110,99 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Hexahydrát chloridu hořečnatého	CAS: 7791-18-6, č. šarže PP/2012/11656, Lach-ner s.r.o., $M = 203,31 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Hydrogenfosforečnan disodný	č. šarže 30393 0401 LACHEMA, a.s., $M = 358,14 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Chlorid železitý	CAS: 7705-08-0, č. šarže PP/2007/02970/0 Lach-ner s.r.o., $M = 162,21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Kyselina hyaluronová (sodná sůl)	č. šarže 392-1202, $M_w = 750 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ , Contipro Biotech s.r.o
Cetyltrimethylamonium bromid	CAS: 57-09-0, č. šarže H6269-500G, Sigma Aldrich, $M = 364,45 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Rozpouštědlo	Deionizovaná voda, ze systému ELGA

### 4.2 Použité metody

#### 4.2.1 Příprava gelů metodou suché cesty

Výchozí směs pro testování vlivu iontové síly na přípravu hydrogelů obsahovala 219 mg CTAB a 60 mg Hya, v obou případech v práškové formě, přičemž byl použit Hya o molekulové hmotnosti  $750 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Následně bylo přidáno k výše uvedné směsi prášků disperzní prostředí.

##### 4.2.1.1 Příprava gelů o různých iontových silách

Byla připravena řada zásobních roztoků NaCl o koncentracích 1; 0,5; 0,3; 0,15; 0,05; 0,01; 0,005; 0,001  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Zásobní roztok NaCl o koncentraci 1  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byl připraven tak, že bylo rozpuštěno 1,461 g NaCl v 25 ml vody. Zásobní roztok NaCl o koncentraci 0,15  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byl připraven tak, že bylo rozpuštěno 4,383 g v 500 ml vody. Další roztoky byly připraveny

postupným ředěním výše uvedených zásobních roztoků. Roztok o koncentraci  $0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 15 ml  $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 15 ml vody, roztok o koncentraci  $0,3 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 10 ml  $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 23 ml vody, roztok o koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 15 ml  $0,15 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 30 ml vody, roztok o koncentraci  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 7 ml  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 28 ml vody, roztok o koncentraci  $0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 15 ml  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 15 ml vody, roztok o koncentraci  $0,001 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven smícháním 7 ml  $0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztoku s 28 ml vody. Použita byla deionizovaná voda.

Přímo do čistých skleněných vialek bylo vždy naváženo 219 mg tenzidu CTAB a 60 mg Hya. Takto připravená směs prášků byla zalita vždy 6 ml roztoku NaCl příslušné koncentrace připravené výše uvedeným způsobem a tím bylo dosaženo požadované iontové síly. Připravené hydrogely, byly po dobu několika vteřin promíchány na vortexu, aby se směs homogenizovala a ponechány v klidu minimálně do dalšího dne.

#### 4.2.1.2 Příprava gelů o iontové síle 0,15 M použitím vícemocných kationtů/aniontů

Bylo zvoleno 6 typů iontů o různých mocnostech tak, aby bylo možné provést komplexnější pozorování a měření. Zároveň bylo pro každý iont vypočítáno jeho potřebné množství k vytvoření hydrogelu o celkové iontové síle 0,15 M. Do čistých skleněných vialek bylo vždy naváženo 219 mg tenzidu CTAB a 60 mg Hya. K již připravené výchozí směsi bylo přidáváno vypočítané množství iontů dle Tab. 2 rovněž v práškové formě a následně byla celá tato směs zalita 6 ml deionizované vody, promíchána na vortexu po dobu několika vteřin a ponechána v klidu minimálně do dalšího dne.

Tabulka 2: Přehled iontů použitých při tvorbě hydrogelů o celkové iontové síle 0,15 M

Přidaný iont	Množství [g]
$\text{CaCl}_2$	0,067
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$	0,122
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$	0,081
$\text{FeCl}_3$	0,073
NaBr	0,093
KI	0,150

#### 4.2.1.3 Příprava gelů o iontové síle 0,3 M použitím vícemocných kationtů/aniontů

Při přípravě těchto hydrogelů bylo postupováno stejným způsobem, jaký je uveden v kapitole 4.2.1.2. Použita byla opět stejná řada iontů, bylo pouze nutné přepočítat jejich množství tak, aby byl vytvořen gel, jehož celková iontová síla bude odpovídat hodnotě 0,3 M. Jednotlivá množství iontů přidávaná k vytvoření těchto gelů, jsou uvedeny v Tab. 3.

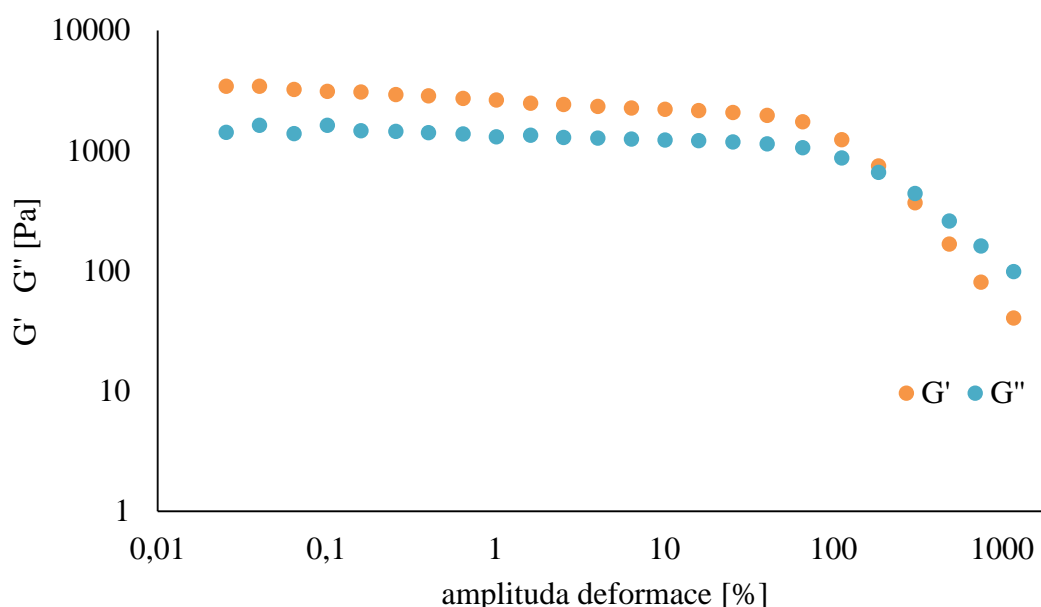
Tabulka 3: Přehled iontů použitých při tvorbě hydrogelů o celkové iontové síle 0,3 M

Přidaný iont	Množství [g]
$\text{CaCl}_2$	0,133
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$	0,244
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$	0,161
$\text{FeCl}_3$	0,146
NaBr	0,185
KI	0,299

#### 4.2.2 Reologická měření

Reologická měření byla provedena na reometru DISCOVERY HR-2 (Hybrid Rheometr) od firmy TA instruments. Jedná se o rotační reometr. Pro všechna měření gelových vzorků byla použita měřicí geometrie deska-deska o průměru horní rotační ocelové desky 20 mm a její vzdálenosti, pokud se nachází v měřicí poloze od spodní stacionární desky 100  $\mu\text{m}$ . Veškerá měření byla provedena při teplotě 25  $^{\circ}\text{C}$ . Nastavení dílčích parametrů bylo provedeno pomocí softwaru TRIOS. Součástí každého měření byl krok relaxace neboli tzv. „conditioning step“, při kterém byl senzor v měřicí poloze ponechán 5 minut působit na vzorek, aby došlo k ustálení podmínek měření.

Nejdříve byl pro všechny vzorky proveden deformační amplitudový test tzv. „strain sweep“, z něhož byla zjištěna lineární viskoelastická oblast tzv. LVO. Jedná se o oblast, ve které nejsou viskoelastické moduly závislé na amplitudě deformace. Byla zjišťována závislost viskoelastických modulů při konstantní hodnotě frekvence, která byla nastavena na 10 rad/s, na měnící se amplitudě deformace. Tuto závislost můžeme pozorovat na uvedeném Obr. 7, kde  $G'$  označuje modul elastický a  $G''$  modul viskózní. Rozsah amplitudy deformace se nacházel v rozmezí 0,01 – 1 000 % a byl v průběhu měření optimalizován. Výsledkem těchto testů bylo nalezení optimální hodnoty amplitudy deformace. Jako optimální hodnota amplitudy deformace bylo zvoleno 1 % a tato hodnota byla použita při dalších typech měření. Zvolená hodnota leží v tzv. LVO, která končí kousek předtím, než dojde k protnutí obou modulů, tzv. cross pointu. Pokud je tato amplituda deformace překročena, dochází k nevratnému rozrušení uzlů gelu a nelze už dosáhnout jeho původní struktury. Z těchto tzv. „strain sweep“ testů jsme schopni určit, zdali se jedná o látku vykazující charakter viskózní kapaliny nebo elastického tělesa a to porovnáním polohy viskoelastických modulů vůči sobě. Rovněž lze gely srovnávat na základě délky jejich LVO. Gel, který má delší LVO vykazuje lepší mechanické vlastnosti především, co se týká rigidity struktury gelu.



Obr. 7: Závislost viskózního a elastického modulu na amplitudě deformace

Frekvenční testy tzv. „frequency sweep“ jsou dalším reologickým měřením, které bylo provedeno za účelem zjištění vlastností gelů. Byla získána závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilace. Měření probíhalo při konstantní hodnotě amplitudy deformace, přičemž hodnota 1 % byla vybrána na základě předchozích testů tak, aby patřila do LVO. Rozsah měnících se frekvencí byl zvolen v rozmezí 0,01 – 20 Hz. Frekvenční testy nám poskytují informace o mechanických vlastnostech gelu v závislosti na cross pointu modulů. Na gely je působeno stále stejnou silou, mění se pouze doba jejího působení.

Třetím typem měření byly tokové testy tzv. „flow sweep“, díky nimž byla zjišťována závislost viskozity gelů na smykové rychlosti. Tato rychlost byla nastavena v rozmezí 0,02 – 200 s<sup>-1</sup>, při němž přístroj provedl 21 skenů při 5 bodech připadajících na dekádu. Délka jednoho skenu byla nastavena na maximálně 60 sekund, přičemž v tomto jednom skenu nesměla být přesažena odchylka viskozit tří opakujících se bodů, která byla nastavena na 5 %. Pokud by byly zvoleny vyšší smykové rychlosti, mohlo by dojít k vylétávání vzorku z přístroje. Tokové křivky nám poskytují informaci především o chování látek, a to jestli se jeví jako newtonské nebo nenewtonské.

Frekvenční a tokové testy byly prováděny pro každý vzorek minimálně dvakrát, dokud nedošlo ke shodě dvou křivek jednoho vzorku. Oscilační testy byly pro každý vzorek měřeny pouze jednou. Naměřené hodnoty jednotlivých vzorků z reologických měření byla pro jejich vyhodnocení exportována do MS Excel. Zde byly tyto hodnoty vyneseny do grafů, u nichž pro lepší orientaci byly obě osy nastaveny v logaritmickém měřítku.

Přehled parametrů pro jednotlivá měření reologických vlastností je uveden v Tab. 4, 5 a 6.

*Tabulka 4: Přehled parametrů nastavených pro měření oscilačních testů*

<b>Oscilační test</b>	
teplota	25 °C
čas relaxace	300 s
úhlová frekvence	10 rad/s
amplituda deformace	0,01 – 1000 %
body na dekádu	5

*Tabulka 5: Přehled parametrů nastavených pro měření frekvenčních testů*

<b>Frekvenční test</b>	
teplota	25 °C
čas relaxace	300 s
úhlová frekvence	0,01 – 20 Hz
amplituda defomace	1 %
body na dekádu	5



*Tabulka 6: Přehled parametrů nastavených pro měření tokových testů*

<b>Tokový test</b>	
teplota	25 °C
čas relaxace	300 s
smyková rychlost	0,02 – 200 s <sup>-1</sup>
body na dekádu	5
max. rovnovážný čas	60 s
doba na vzorek	5 s
tolerance	5 %
počet bodů v rámci tolerance	3

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

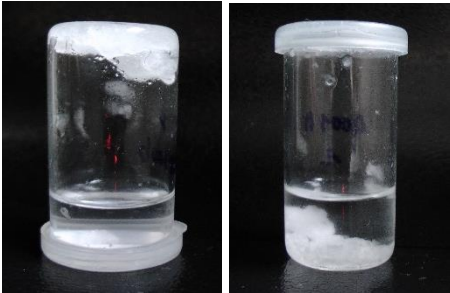
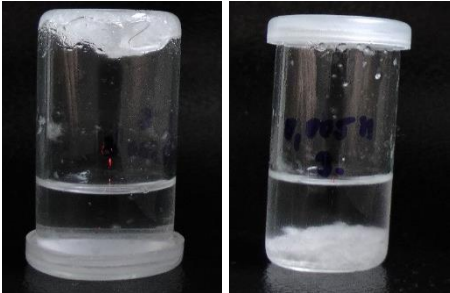
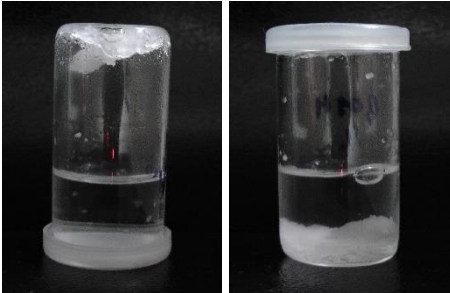

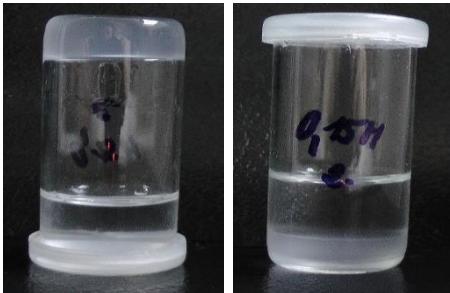
Cílem této bakalářské práce je studovat vliv výchozího poměru látek na vznik hydrogelů na bázi hyaluronan – CTAB. Tyto hydrogely byly připraveny tzv. suchou cestou, kdy výchozí ingredience byly smíchány v práškové formě a následně bylo přidáno disperzní prostředí. Jako disperzní prostředí byla použita voda a různě koncentrované roztoky NaCl. V této části práce bude na základě pozorování a reologických měření diskutován vliv poměru jednotlivých složek na vznik hydrogelu.

### 5.1 Vizuální pozorování vlivu různých iontových sil na vznik hydrogelu

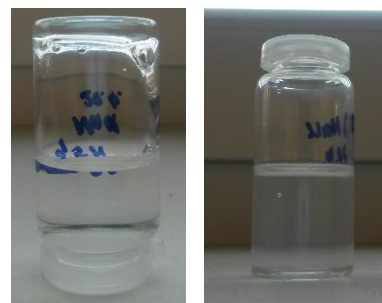
Jedním z cílů této bakalářské práce je studovat vliv různých iontových sil a odhadnout množství připraveného hydrogelu pomocí fázové separace polyelektrolytu hyaluronanu sodného (Hya) s kationaktivním tenzidem cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB) metodou tzv. suché cesty, přičemž je přidáno disperzní prostředí v podobě různě koncentrovaných roztoků NaCl. Způsob této přípravy je podrobně uveden v kapitole 4.2.1.1.

Z vizuálního hlediska se jeví, že iontová síla neměla výraznější vliv na množství vzniklého gelu. Při nejnižších iontových silách byl pozorován vznik tuhé sraženiny na dně vialky a to u vzorků s iontovou silou 0,001; 0,005 a 0,01 M, u nichž došlo ke vzniku stejného množství. Vlivem nízkomolekulární NaCl prostředí připomínalo spíše vodné prostředí a při nižších teplotách v laboratoři se tenzid CTAB vysrážel v krystalickou sraženinu, tak jako v případě vody. Pokud došlo ke zvýšení teploty, krystaly zmizely a zůstala pouze tuhá sraženina. Množství ostatních připravených gelů nepřesahovalo v žádném případě 3 ml, přičemž z vizuálního pozorování nelze s jistotou říci, že gel o iontové síle 1 M je skutečně ještě gel a nejedná se spíše o viskózní kapalinu. Pokud naše pozorování totiž zaměříme na tuhost gelu, nalezneme zde jakýsi trend a to ten, že čím vyšší je iontová síla, tím má gel nižší viskozitu a je více tekutý. Gel s iontovou silou 1 M tekl rychleji, jak gel o iontové síle 0,5 M nebo 0,3 M. Při iontové síle 0,15 M byl gel stabilní a netekl, ale opět byl oproti gelu s iontovou silou 0,05 M méně viskózní. Rovněž je nutno podotknout, že gely s iontovou silou nad 0,15 M po 3 dnech od přípravy neudržely svoji formaci, pokud byly ponechány společně se supernatantem a můžeme o nich tedy říci, že se nejedná o mechanicky stabilní gely. Při vyšších iontových silách sice dochází ke vzniku čirých gelů, ale tyto gely jsou značně nestabilní. Dále byla pozorována čirost gelu a bylo zjištěno, že gely s iontovou silou nad 0,15 M jsou čiré i bez použití odstředění a dají se tak využít pro případná spektrometrická měření, není zde na první pohled patrné ani fázové rozhraní, jako je tomu u gelů s iontovou silou 0,05 M a 0,15 M, jejichž gelová fáze je mírně zakalená s jinak více či méně čirým supernatantem. Na vybraných gelech bylo provedeno reologické měření, jehož vyhodnocení se nachází v následujících kapitolách. Výsledky vizuální analýzy vlastností gelů jsou shrnuty v Tab. 7.

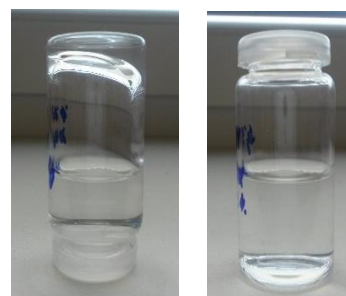
Tabulka 7: Vizuální hodnocení gelů na bázi Hya-CTAB o různých iontových silách

Koncentrace NaCl [mol·l <sup>-1</sup> ]	Množství vzniklého gelu	Vzhled supernatantu	Vzhled gelu	Obrázky
0,001	0,75 ml vzniklé bělavé sraženiny na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	čirý	tuhá, bělavá, lepivá sraženina	
0,005	0,75 ml vzniklé bělavé sraženiny na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	čirý	tuhá, bělavá, lepivá sraženina	
0,01	0,75 ml vzniklé zakalené sraženiny na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	zakalený	tuhá, zakalená, lepivá sraženina	
0,05	1 ml mírně zakaleného gelu na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	mírně zakalený	pevný, mírně zakalený gel	
0,15	2,5 ml zakaleného gelu na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	čirý	měkký, zakalený gel	

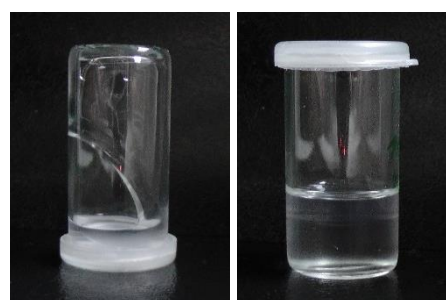
0,3      1 ml čirého gelu  
na dně vialky      mírně zakalený      lehce tekutý  
čirý gel



0,5      1,5 ml čirého  
gelu na dně  
vialky      čirý      tekutý čirý gel



1      3 ml čirého gelu  
na dně vialky      mírně zakalený      velmi tekutý  
čirý gel



## 5.2 Vizuální pozorování hydrogelů o iontové síle 0,15 M za použití různých iontů

Hydrogely byly připravovány pomocí fázové separace polyelektrolytu hyaluronanu sodného (Hya) s kationaktivním tenzidem cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB) metodou tzv. suché cesty, přičemž pro dosažení iontové síly o hodnotě 0,15 M byly využity různé ionty, jejichž přehled je uveden v Tab. 2. Takto připravená směs byla zalita deionizovanou vodou. Podrobný způsob této přípravy je uveden v kapitole 4.2.1.2.

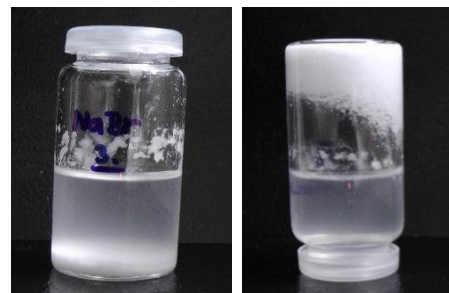
Na základě vizuálního pozorování lze říci, že iontová síla v případě tohoto způsobu přípravy gelů nehraje roli, jelikož nedošlo podle předpokladu ke vzniku gelů se všemi použitými ionty uvedenými v Tab. 2. K tvorbě gelů došlo v případech, kdy byly k základní směsi CTAB a Hya přidány ionty o malém atomovém poloměru. Při přidavku  $\text{CaCl}_2$  a  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  došlo ke vzniku krásně čirý gelů, jejichž index lomu odpovídá indexu lomu vody. Na první pohled zde nelze rozlišit ani fázové rozhraní, neboť čirost vzniklého gelu i supernatantu byla stejná. Je ovšem nutno podotknout, že se nejedná o stabilní gely, po 3 dnech od přípravy neudržely svoji formaci, když jim byl ponechán supernatant a můžeme o nich tedy říci, že se nejedná o mechanicky stabilní gely, jelikož se z nich stala rychle tekoucí viskózní kapalina. Pokud jim byl ovšem supernatant odebrán, gely udržely svoji formaci i dva měsíce od jejich přípravy. Ke vzniku gelu došlo i při přidavku  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ , zde ovšem došlo ke vzniku menšího množství, jak při přidavku  $\text{CaCl}_2$  a  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  a to o polovíčku, vzniklý gel byl mírně zakalený a tuhý. V případě tvorby gelu s přidavkem  $\text{FeCl}_3$ , zde byl vidět jakýsi nedokonalý

„pokus“ o vznik gelu, který se projevil vznikem sraženiny plavající v supernatantu. V případě přípravy gelu s přidavkem NaBr a KI nedošlo ke vzniku gelu, došlo pouze k vysrážení částic ve viskózní kapalině. Jedná se totiž o látky s velkým atomovým poloměrem a můžeme tedy říci, že zde neproběhla difúze iontů do základní struktury gelu, která je tvořena Hya a CTAB. Na vybraných gelech bylo provedeno reologické měření, jehož vyhodnocení se nachází v následujících kapitolách. Podrobný přehled vizuální analýzy vlastností gelů je uveden v Tab. 8.

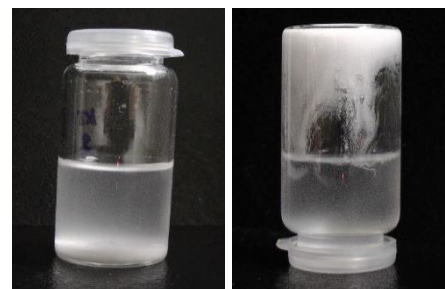
*Tabulka 8: Vizuální hodnocení gelů na bázi Hya-CTAB o iontové síle 0,15 M za použití různých iontů*

Iont	Množství vzniklého gelu	Vzhled supernatantu	Vzhled gelu	Obrázky
$\text{CaCl}_2$	1,75 ml čirého gelu na dně vialky	čirý	lehce tekutý čirý gel	
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,75 ml čirého gelu na dně vialky	čirý	lehce tekutý čirý gel	
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	1 ml mírně zakaleného gelu na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	čirý	tuhý, mírně zakalený gel	
$\text{FeCl}_3$	2 ml plavajícího shluku částic v roztoku	čirý, žlutooranž.	nevzniká gel	

	na dně vialky se nachází 1 ml vysrážených částic bílé barvy	mírně zakalená viskózní kapalina	nevzniká gel
NaBr			



	na dně vialky se nachází 1 ml vysrážených částic bílé barvy	mírně zakalená viskózní kapalina	nevzniká gel
KI			



### 5.3 Vizuální pozorování hydrogelů o iontové síle 0,3 M za použití různých iontů

Hydrogely byly opět připravovány pomocí fázové separace polyelektrolytu hyaluronanu sodného (Hya) s kationaktivním tenzidem cetyltrimethylamonium bromidem (CTAB) metodou tzv. suché cesty, přičemž pro dosažení iontové síly o hodnotě 0,3 M byly využity různé ionty, jejichž přehled je uveden v Tab. 3. Takto připravená směs byla zalita deionizovanou vodou. Podrobný způsob této přípravy je uveden v kapitole 4.2.1.3.

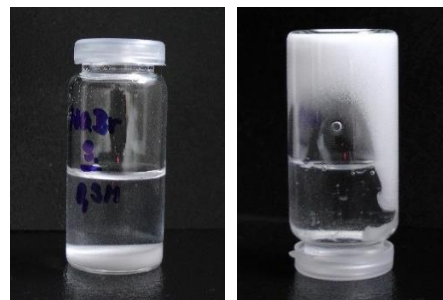
V této kapitole se pokusím srovnat na základě vizuálního pozorování gely o celkové iontové síle 0,3 M s gely o celkové iontové síle 0,15 M. V obou případech byly pro jejich tvorbu použity stejné ionty. Na základě vizuálního pozorování můžeme opět říci, že iontová síla v případě přípravy gelů o iontové síle 0,3 M tvořené pomocí různých iontů uvedených v Tab. 3 nehraje roli. Vzniklé gely jsou až na nepatrné nuance stejné, co se týká objemu, vlastností gelů či supernatantu. Gely o iontové síle 0,3 M vytvořené přidavkem  $\text{CaCl}_2$  a  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  se lišily pouze nepatrně v objemu od gelů o iontové síle 0,15 M a to tak, že došlo ke vzniku menšího množství. Další rozdíl pozorovaný mezi těmito gely byl, že při současném otočení vialky dnem vzhůru oba dva gely s iontovou silou 0,15 M tekly rychleji, byly tedy méně viskózní než gely s iontovou silou 0,3 M. V případě gelu s přidavkem  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  o iontové síle 0,3 M nebyl pozorován žádný rozdíl oproti gelu s iontovou silou 0,15. Výraznější změnu projevil gel s přidavkem  $\text{FeCl}_3$  při iontové síle 0,3 M, jelikož došlo ke vzniku krásně čirého gelu, zatímco v případě iontové síly 0,15 M došlo ke vzniku sraženiny plavající v supernatantu. Gely o iontové síle 0,3 M s přidavkem NaBr a KI oproti gelům s iontovou silou 0,15 M neprojevily až na zakalený supernatant žádný rozdíl. Na závěr lze tedy říci, že ke tvorbě gelů došlo opět v případech, kdy přidané ionty měly malý atomový poloměr. Na vybraných gelech bylo opět provedeno reologické měření, jehož vyhodnocení se nachází v následujících kapitolách. Podrobný přehled vizuální analýzy vlastností gelů s iontovou silou 0,3 M tvořenou přidavkem různých iontů je uveden v Tab. 9.



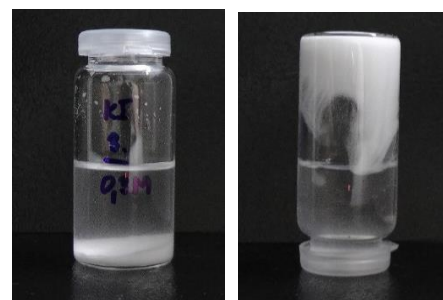
Tabulka 9: Vizuální hodnocení gelů na bázi Hya-CTAB o iontové síle 0,3 M za použití různých iontů

Iont	Množství vzniklého gelu	Vzhled supernatantu	Vzhled gelu	Obrázky
$\text{CaCl}_2$	1,25 ml čirého gelu na dně vialky	čirý	lehce tekutý čirý gel	
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,25 ml čirého gelu na dně vialky	čirý	lehce tekutý čirý gel	
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	1 ml mírně zakaleného gelu na dně vialky, mastná vrstva na stěně vialky	čirý	tuhý, mírně zakalený gel	
$\text{FeCl}_3$	2 ml čirého gelu žlutooranžové barvy u dna vialky	čirý, žlutooranž.	lehce tekutý čirý gel žlutooranžové barvy	

NaBr	na dně vialky se nachází	čirá viskózní kapalina	nevzniká gel
	1 ml vysrážených částic bílé barvy		



KI	na dně vialky se nachází	mírně zakalená viskózní kapalina	nevzniká gel
	1 ml vysrážených částic bílé barvy		



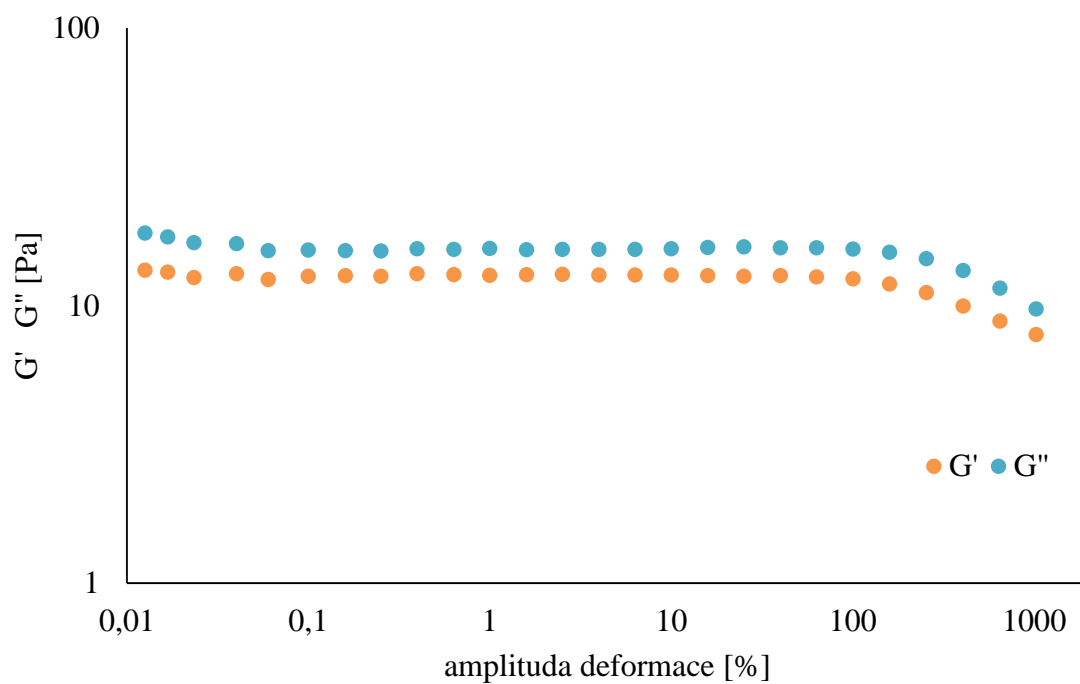
## 5.4 Reologická měření

### 5.4.1 Vyhodnocení oscilačních testů

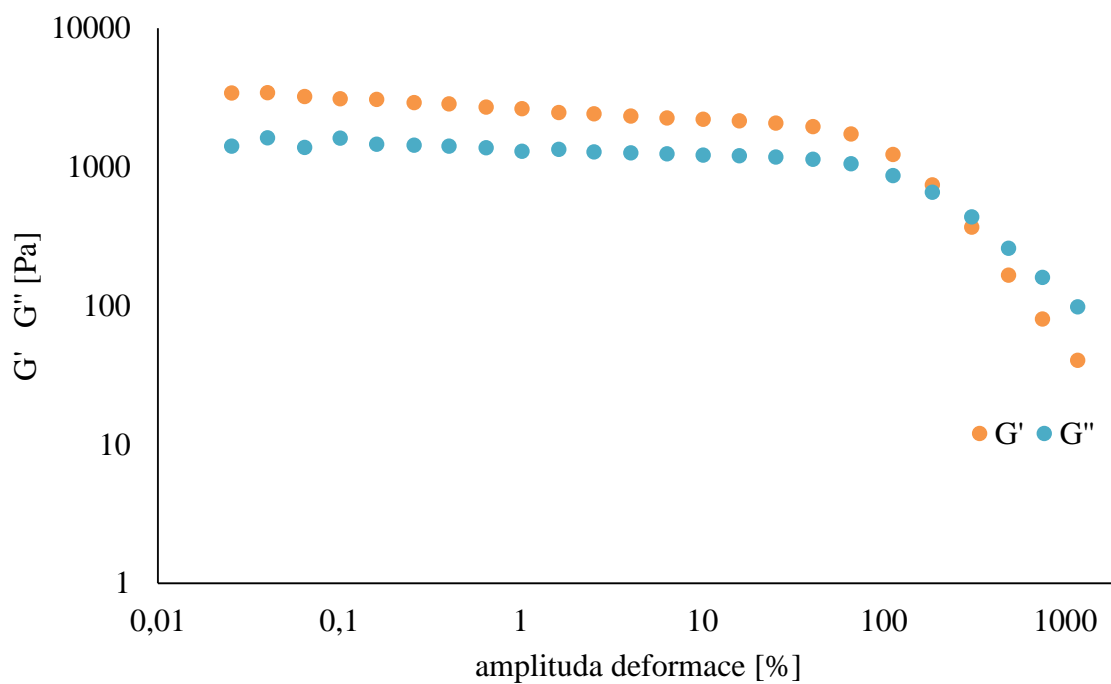
Nejprve bylo ze všech reologických testů provedeno oscilační měření. U vybraných vzorků byl měřen deformační test tzv. strain sweep, u něhož byla udržována konstantní frekvence s měnící se amplitudou napětí. Podrobněji je tenhle typ měření rozebrán v kapitole 4.2.2. Experiment byl vyhodnocen na základě porovnání hodnot viskoelastických modulů. Pokud převažuje elastický modul  $G'$ , látka vykazuje chování odpovídající tuhému tělesu, jeli tomu naopak a převažuje viskózní modul  $G''$  odpovídá chování látky spíše kapalině, tyto dva případy jsou znázorněny na Obr. 8 a 9. Rovněž lze vypočítat ztrátový úhel  $\delta$  podle uvedené rovnice (5), z kterého lze následně usoudit povahu zkoumaného vzorku. Pokud je tento úhel  $\delta > 45^\circ$  chování vzorku má viskózní charakter, pokud je  $\delta < 45^\circ$  chování vzorku má elastický charakter.

$$\operatorname{tg}(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$





Obr. 8: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace, převaha viskózního modulu ( $G''$ ) nad elastickým ( $G'$ ), látka vykazuje chování tuhého tělesa



Obr. 9: Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace, převaha elastického modulu ( $G'$ ) nad viskózním ( $G''$ ), látka vykazuje chování viskózní kapaliny

Vybrané vzorky, u nichž byl proveden deformační test, jsou uvedeny v Tab. 10. Vyhodnocení jejich chování proběhlo na základě toho, jaký modul byl v převaze. Výše byly popsány dva limitní případy chování, které mohou nastat, jednalo se o chování viskózní a elastické, v případě, že byl rozdíl pouze nepatrný v hodnotách určující konkrétní modul, byl udán převažující modul. V Tab. 10 jsou uvedeny vzorky, jejich iontová síla a iont, který byl potřebný pro dosažení udané iontové síly, rovněž je u každého vzorku pro přehlednost vypočítán ztrátový úhel  $\delta$ , určující povahu zkoumaného vzorku.

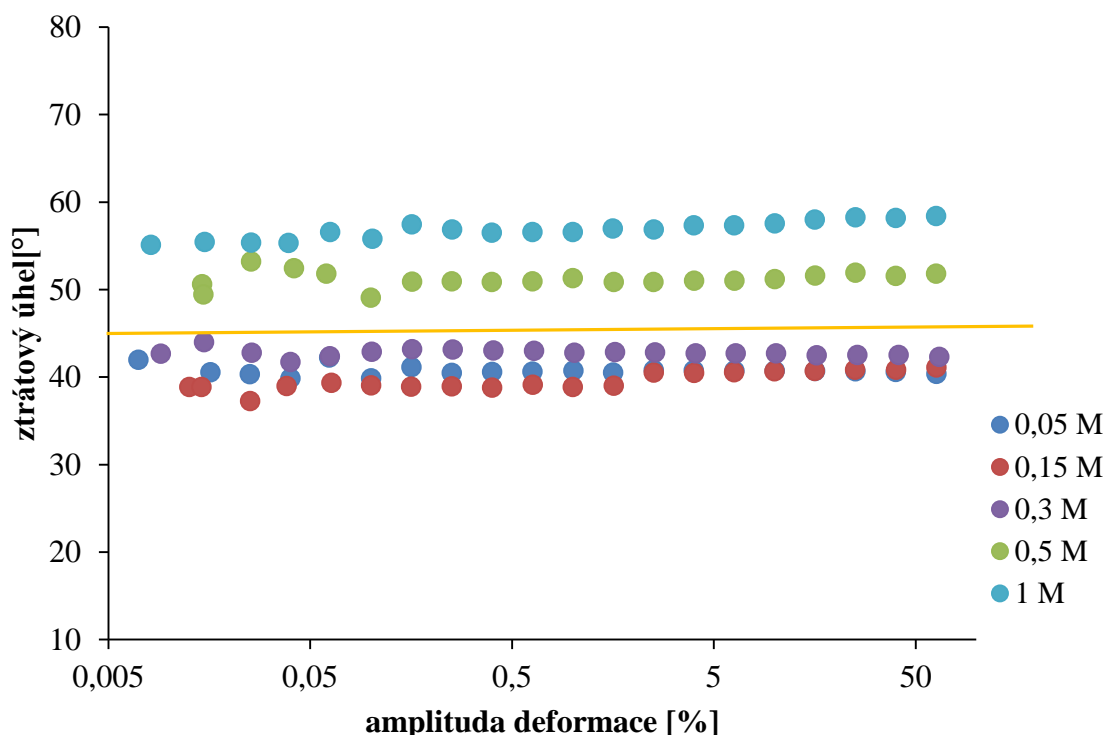
*Tabulka 10: Přehled viskoelastického chování gelů na bázi Hya-CTAB na základě oscilačních testů*

<b>Iontová síla [M]</b>	<b>Přidaný iont</b>	<b>Chování</b>	<b><math>\delta</math></b>
0,05	NaCl	elastické	39°03'
0,15	NaCl	elastické	40°33'
0,3	NaCl	elastické	42°20'
0,5	NaCl	viskózní	51°25'
1	NaCl	viskózní	57°08'
0,15	MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	elastické	42°05'
0,15	CaCl <sub>2</sub>	elastické	39°31'
0,15	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	elastické	28°28'
0,15	KI	viskózní	48°25'
0,3	MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	elastické	44°01'
0,3	CaCl <sub>2</sub>	elastické	42°01'
0,3	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	elastické	36°07'
0,3	KI	viskózní	48°13'
0,3	FeCl <sub>3</sub>	elastické	39°38'

Na Obr. 10 je graficky znázorněna závislost ztrátových úhlů na amplitudě pro různé iontové síly tvořené přidavkem iontu NaCl. Ztrátové úhly byly vypočteny podle rovnice (5). Již z Tab. 10 je patrný charakter jejich chování, avšak pro lepší porovnání jednotlivých vzorků byl vytvořen graf. Osa x je zde uvedena v logaritmickém měřítku. Oranžová přímka nám udává 45°, tvoří tedy jakýsi mezník mezitím, jestli se daný vzorek chová jako elastické těleso nebo viskózní kapalina. Jak můžeme vidět na Obr. 10 gely tvořené přidavkem NaCl, jejichž iontová síla odpovídá hodnotám 0,05; 0,15 a 0,3 M vykazují charakter elastického tělesa, neboť jejich ztrátové úhly nedosahují hodnoty 45° a nacházejí se pod ní. Dále lze o těchto gelech říci, že gel o iontové síle 0,05 M je tužší, jak gely o iontových silách 0,15 M a 0,3 M. Jak je patrné z Tab. 10 gel o iontové síle 0,3 M se nachází blízko hranice určující povahu vzorku, není tedy natolik pevný, aby udržel svoji formaci a proto se z něj pravděpodobně po 3 dnech od přípravy stává viskózní kapalina, pokud není ihned následující den po vytvoření gelu odstraněn supernatant. Gely o iontových silách 0,5 M a 1 M nacházející se nad oranžovou přímkou, se chovají jako viskózní kapaliny, jelikož jejich ztrátové úhly jsou větší jak 45°. Opět zde můžeme porovnat jejich viskozitu. Nejméně viskózní se jeví gel s přidavkem NaCl o iontové síle 1 M a je tedy více tekutý ve srovnání s gelem o iontové síle 0,5 M. Lze tedy říci, že se ze zvyšující silou stávají gely méně viskózní.

Pokud zaměříme svoji pozornost na srovnání gelů o konkrétní iontové síle 0,15 M a 0,3 M, která je tvořena pomocí různých typů iontů uvedených v Tab. 10, které byly vybrány pro reologická měření, můžeme zde pozorovat určitý trend. Pro obě síly byly vybrány stejné typy iontů, a jak je z Tab. 10 patrné, ionty tvořící iontovou sílu o hodnotě 0,3 M jsou oproti iontům tvořícím iontovou sílu o hodnotě 0,15 M méně viskózní, z čehož zase vyplývá fakt, že se zvyšující se iontovou silou dochází k poklesu viskozity. Jedinou výjimku tvoří gel připravený

přídavkem iontu KI, neboť u něj došlo pouze k zanedbatelné změně při obou zvolených iontových silách. Rovněž nelze porovnat gel o iontové síle 0,3 M vytvořený přídavkem  $\text{FeCl}_3$  s gelem o iontové síle 0,15 M, neboť nebyl z důvodu vzniku sraženiny vybrán pro reologické měření, ovšem ačkoliv nebyl tento gel reologicky proměřen, je z jeho konzistence zřejmé, že gel o iontové síle 0,3 M je oproti gelu s iontovou silou méně viskózní a tedy dochází k opětovnému potvrzení pozorovaného trendu.



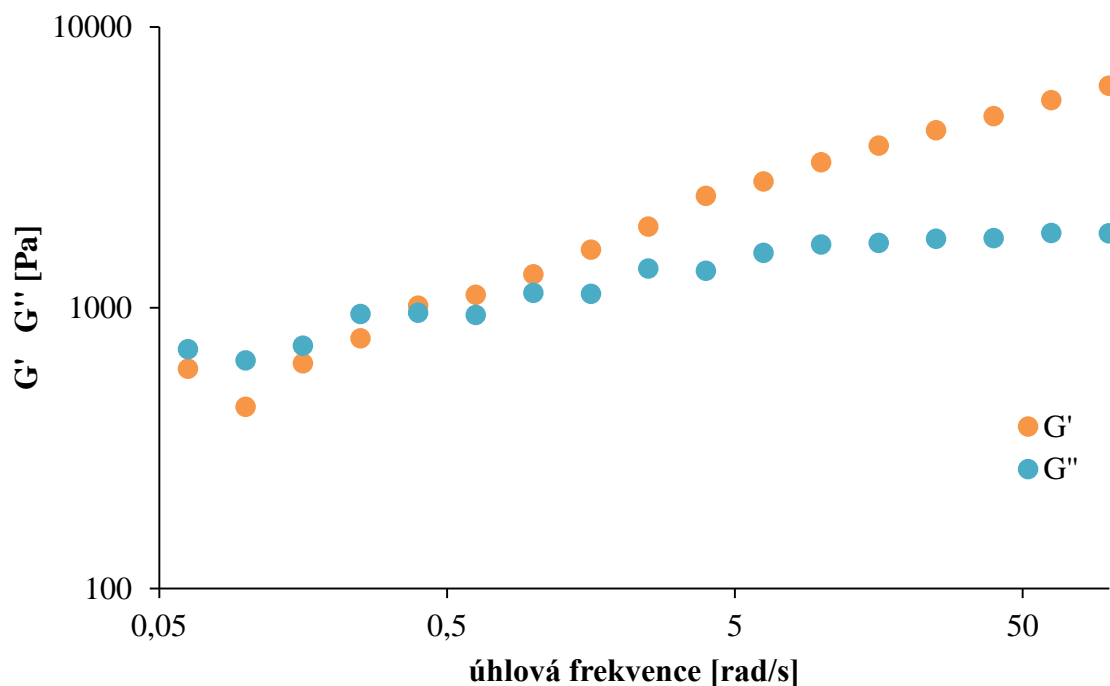
Obr. 10: Závislost ztrátových úhlů na amplitudě pro různé iontové síly tvořené přídavkem iontu NaCl

#### 5.4.2 Vyhodnocení frekvenčních testů

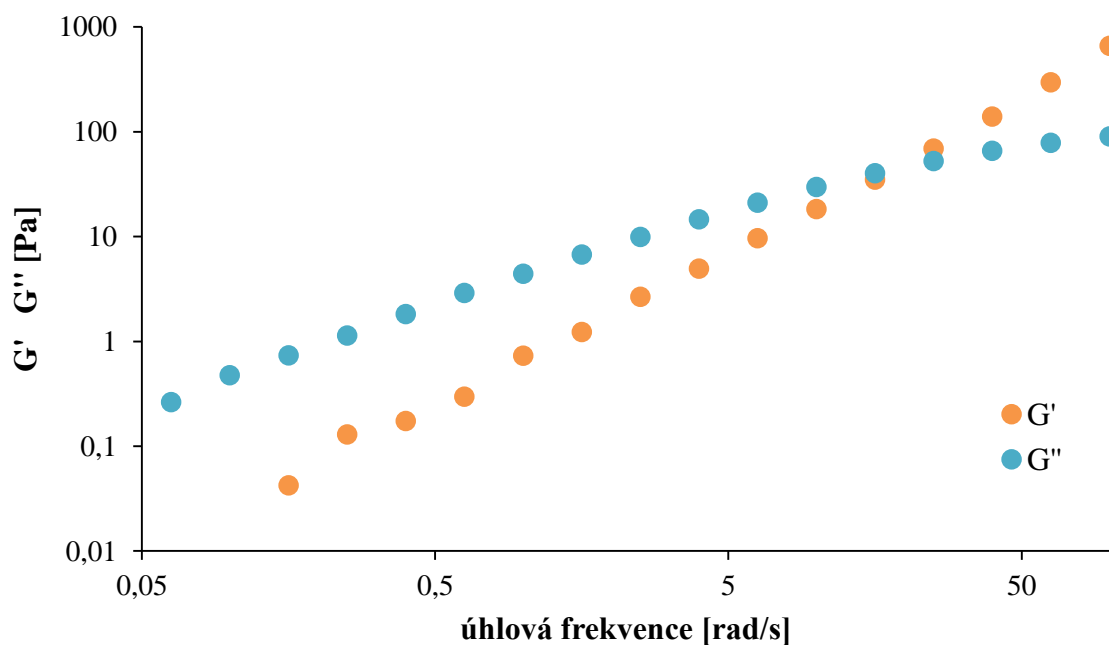
Dalším z reologických měření byl frekvenční test neboli tzv. „frequency sweep“, který velice úzce souvisí s deformačními testy z předchozích oscilačních testů. V deformačním testu jsme si zjistili oblast lineární viskoelastivity tzv. LVO. Nalezení této oblasti bylo důležité pro správné nastavení měření frekvenčních testů, aby bylo zajištěno, že u gelů nedochází k elastické deformaci. Tato hodnota v našem případě odpovídala 1 %. Podrobné nastavení přístroje při tomto typu měření je uvedeno v kapitole 4.2.2. Na základě těchto testů byly získány závislosti viskoelastických modulů či ztrátového úhlu na měnící se úhlové frekvenci. Z výsledků těchto testů můžeme opět porovnat chování gelů podle toho, který z modulů převažuje. Pokud sledujeme posun modulu v porovnání s osou y, můžeme z toho vyvodit mechanickou tuhost gelu jako celku při vratné deformaci. Pokud budeme sledovat posuny modulů v porovnání s osou x v případě jejich překřížení tzv. cross pointu získáme informaci o chování gelů v závislosti na době působící síly a frekvenci oscilací.

Grafické znázornění viskózního a elastického modulu v závislosti na měnící se úhlové frekvenci je zobrazeno na Obr. 11a 12. V případě gelu na Obr. 11 převažuje elastický modul nad modulem viskózním, tím pádem vykazuje tento gel lepší mechanické vlastnosti, jak gel na

Obr. 12, kde převažuje při nižších frekvencích a tedy delším čase působící síly viskózní modul nad modulem elastickým.



Obr. 11: Závislost viskoelastických modulů na úhlové frekvenci, s převažujícím elastickým modulem



Obr. 12: Závislost viskoelastických modulů na úhlové frekvenci, s převažujícím viskózním modulem

V Tab. 11 je uvedeno vyhodnocení frekvenčních testů, výsledky chování jednotlivých gelů vyplývající z frekvenčních testů korespondují s chováním gelů, které vyšlo při vyhodnocení deformačních testů. Chování při frekvenčních testech bylo určeno na základě toho, kde se

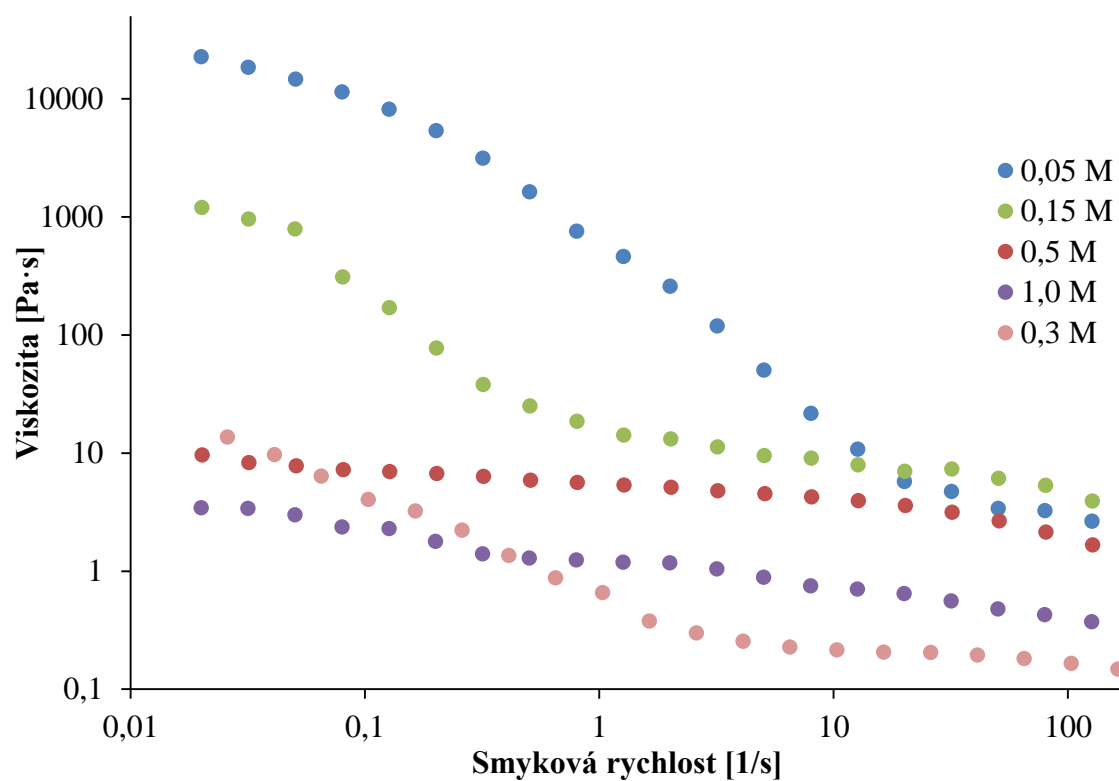
nacházel tzv. cross point a v závislosti na jeho pozici byly rovněž vyvozeny mechanické vlastnosti daného gelu. Gel o iontové síle 0,3 M s přídavkem NaCl se nacházel na hranici, jen velice těsně převážil modul elastický. Nejlepší mechanické vlastnosti vykazoval gel o iontové síle 0,15 M tvořený přídavkem  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  a naopak nejhorší mechanické vlastnosti vykazoval gel o iontové síle 1 M, tvořený přídavkem NaCl.

*Tabulka 11: Přehled viskoelastického chování gelů na bázi Hya-CTAB na základě frekvenčních testů*

<b>Iontová síla [M]</b>	<b>Přidaný iont</b>	<b>Chování</b>	<b>Mechanické vlastnosti</b>
0,05	NaCl	elastické	dobré
0,15	NaCl	elastické	dobré
0,3	NaCl	elastické	dobré
0,5	NaCl	viskózní	horší
1	NaCl	viskózní	horší
0,15	$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	elastické	dobré
0,15	$\text{CaCl}_2$	elastické	dobré
0,15	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	elastické	dobré
0,15	KI	viskózní	horší
0,3	$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	elastické	dobré
0,3	$\text{CaCl}_2$	elastické	dobré
0,3	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	elastické	dobré
0,3	KI	viskózní	horší
0,3	$\text{FeCl}_3$	elastické	dobré

### 5.4.3 Vyhodnocení tokových testů

Jako poslední bylo provedeno reologické měření tokových testů. Byla zde sledována závislost viskozity na smykové rychlosti. Podrobné nastavení přístroje při tomto měření je uvedeno v kapitole 4.2.2. Bylo provedeno srovnání různých vlivů iontových sil tvořených pomocí NaCl. Z Obr. 13 je možné si všimnout trendu, že při nízkých iontových silách, konkrétně 0,05; 0,15 a 0,3 M tvořených přídavkem NaCl, vykazují látky do hodnoty smykové rychlosti  $0,1 \text{ s}^{-1}$  newtonské chování, po překročení této hodnoty dochází ke strmému poklesu viskozity. Tohle chování se označuje jako pseudoplastické a je charakteristické pro nenewtonovské kapaliny. V našem případě se gely s nejnižšími iontovými silami chovají jako nenewtonské. Avšak gely o vyšších iontových silách, a to 0,5 M a 1 M tvořené přídavkem NaCl vykazují v celém rozsahu smykových rychlostí chování newtonské kapaliny. Můžeme tedy říci, že čím více se nacházelo v gelu přidané soli, tím byl daný gel měkčí, a tím více vykazoval chování newtonské kapaliny. Po překročení smykové rychlosti o hodnotě  $10 \text{ s}^{-1}$ , již dochází k pozvolnějšímu poklesu viskozity, k tomuto jevu dochází pravděpodobně z toho důvodu, že struktura gelu je zde porušena nevratně a vzorek ve své struktuře již neobsahuje zesíťované řetězce.



Obr. 13: Závislost viskozity na smykové rychlosti pro gely o různých iontových silách tvořených přidavkem NaCl

## 6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo prostudovat vliv iontové síly na tvorbu hydrogelů na bázi hyaluronan-CTAB, přičemž k jeho tvorbě byla použita metoda tzv. suché cesty, kdy byly výchozí ingredience smíchány v práškové formě a až následně bylo přidáno disperzní prostředí. Dle zadání byla zpracována literární rešerše, kde byly shrnuty poznatky autorů, kteří nějakým způsobem připravovali fyzikálně síťované biokompatibilní hydrogely. V rámci rešerše byla rovněž studována interakce hyaluronan-tenzid a bylo pojednáno o možných aplikacích hydrogelů.

Na základě vizuálního pozorování byl studován vliv různých iontových sil (od 0,001 M do 1 M) a konkrétních iontových sil 0,15 M a 0,3 M vytvořených přidavkem vícemocných kationtů/aniontů. Bylo odhadnuto množství připraveného gelu, přičemž iontová síla neměla výraznější trend na množství vzniklého gelu. Pouze v nejnižších iontových silách byla pozorována jiná fáze, sraženina, v jinak čirém gelu. Rovněž lze říci, že v žádném případě množství připraveného gelu nepřesahovalo 3 ml. Bylo zjištěno, že čím vyšší je iontová síla, tím má hydrogel nižší viskozitu a je více tekutý, tento fakt byl potvrzen i na základě výsledků reologických měření. Gel s iontovou silou 1 M je méně viskózní, jak gel o iontové síle 0,5 M a oba dva gely vykazují chování spíše viskózní kapaliny. Dále bylo zjištěno, že vzniklé gely s iontovou silou nad 0,15 M po 3 dnech od přípravy neudržely svoji formaci, pokud byly ponechány společně se supernatantem, z čehož vyplývá, že se nejedná o mechanicky stabilní gely. Při vyšších iontových silách sice dochází ke vzniku čirých gelů, avšak tyto gely jsou značně nestabilní, a pokud nejsou proměřeny neprodleně po jejich přípravě, jeví se právě jako viskózní kapaliny. Co se týká čirosti gelů, bylo zjištěno, že gely s iontovou silou nad 0,15 M jsou čiré i bez použití odstředění.

V případě tvorby gelů o konkrétních iontových silách 0,15 M a 0,3 M vytvořených přidavkem vícemocných kationtů/aniontů lze na základě vizuálního pozorování říci, že iontová síla v případě tohoto způsobu přípravy gelů nehraje roli, jelikož nedošlo podle předpokladu ke vzniku gelů se všemi použitými ionty uvedenými, jak v Tab. 2, tak v Tab. 3. K tvorbě gelů došlo v případech, kdy byly k základní směsi CTAB a Hya přidány ionty o malém atomovém poloměru, pokud byly přidány látky s velkým atomovým poloměrem, můžeme říci, že zde neproběhla difúze iontů do základní struktury gelu a nedošlo ke vzniku gelu, ale pouze k vysrážení částic ve viskózní kapalině.

Reologická měření potvrzují vizuální pozorování a rozšiřují obzory našich poznatků o fakt, že nejlepší mechanické vlastnosti vykazoval gel o iontové síle 0,15 M tvořený přidavkem  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  a naopak nejhorší mechanické vlastnosti vykazoval gel o iontové síle 1 M, tvořený přidavkem NaCl. V případě měření tokových testů bylo provedeno srovnání různých vlivů iontových sil tvořených pomocí NaCl, přičemž zde byl pozorován trend, že čím více se nacházelo v gelu přidané soli, tím byl daný gel měkčí, a tím více vykazoval chování newtonské kapaliny. Gely s nízkým obsahem soli se naopak jeví jako neneutonské.

Cíle bakalářské práce byly splněny a do budoucna se jeví zajímavé zjistit, jak difundují látky v rámci toho gelu, případně se podívat na strukturu gelu elektronovým mikroskopem či využít techniku mikrореologie pomocí FCS.

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vyd. 4. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. ISBN 80-708-0475-0.
- [2] ŠČUKIN, E. D., A. V. PERCOV a E. A. AMELINOVÁ. Koloidní chemie. 1. vyd. Praha: Academia, 1990. ISBN 80-200-0259-6.
- [3] Disperzní systém. Vydavatelství VŠCHT Praha [online]. [cit. 2016-03-16]. Dostupné z: [http://147.33.74.135/knihy/uid\\_es-001/hesla/disperzni\\_system.html](http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/hesla/disperzni_system.html)
- [4] BRDIČKA, Rudolf; KALOUSEK, Mirko; SCHÜTZ, Alexandr. Úvod do fyzikální chemie: Soly lyofobní a lyofilní. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1972, s. 497.
- [5] POUCHLÝ Julius: Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav. 3. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [6] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-708-0579-X.
- [7] Sol-gel chemistry of carbon. Max Planck Institute of Colloids and Interfaces [online]. [cit. 2016-03-18]. Dostupné z: [http://www.mpikg.mpg.de/1571937/Sol-gel\\_chemistry\\_of\\_carbon](http://www.mpikg.mpg.de/1571937/Sol-gel_chemistry_of_carbon)
- [8] SEDLÁČEK, P. Reologie gelů – stručný přehled. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2007. 34 s.
- [9] MOORE, W. J.: Fyzikální chemie. SNTL, Praha, 1979
- [10] FEARS, M. A. a kol.: Syneresis and rheology of weak colloidal particle gels. Colloids Surf., A, 2006, vol. 288, no. 1 – 3, pp. 170-179
- [11] SEDLÁČEK, P.: Difúze kovových iontů v huminových gelech. Brno, 2006, 70 s., Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
- [12] KUDLÁČKOVÁ, M. Využití gelů s vyšší koncentrací heparinu v chirurgické praxi. Interní med. [online]. 2007, 4, [cit. 2016-03-27]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2007/04/13.pdf>
- [13] CHALUPOVÁ, Z., et al. Farmaceutické hydrofilní gely. Česká a slovenská farmacie [online]. 2005, 54, [cit. 2010-05-06]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/ceska-slovenska-farmacie-clanek/farmaceuticke-hydrofilni-gely-3283>



- [14] TANAKA, Toyochi. Phase transitions of Gels. In ACS Symposium Series (1991), 480 (Polyelectrolyte Gels: Properties, Preparation and Applications), 1–23.
- [15] COLLINS, Maurice N. Hyaluronic Acid for Biomedical and Pharmaceutical Applications. Shawbury: Smithers Rapra, 2014, s. 238. ISBN 978-190903-077-0.
- [16] MATYJASZEWSKI, Krzysztof a Martin MÖLLER. Polymer Science: A Comprehensive Reference. 2nd ed. Burlington: Elsevier Science, 2012. ISBN 978008-0878-621.
- [17] ROSIAK, J.M. a F. YOSHII. Hydrogels and their medical applications. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms [online]. 1999, č. 151 [cit. 2016-03-27]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X99001184>
- [18] NECAS, J., BARTOSKOVÁ, L., BRAUNER, P., KOLAR, J.: Hyaluronic acid (hyaluronan): areview. Veterinarni medicina. 2008, roč. 53, č. 8, s. 397-411.
- [19] Kyselina hyaluronová. *CONTIPRO* [online]. [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: <http://www.contipro.com/portfolio/hyaluronan-forms>
- [20] LAPCIK JR., Lubomic, Lubomir LAPCIK, Stefaan DE SMEDT, Joseph DEMEESTER a Peter CHABRECEK. ChemInform Abstract: Hyaluronan. ChemInform. 1999, 30(12), no-no. DOI: 10.1002/chin.199912338. ISSN 09317597. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/chin.199912338>
- [21] SCOTT, J. E. Secondary and Tertiary Structures of Hyaluronan in Aqueous Solution. Some Biological Consequences. GlycoForum [online]. 1998 [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA02/HA02E.html>
- [22] Kyselina hyaluronová. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina\\_hyaluronov%C3%A1](https://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_hyaluronov%C3%A1)
- [23] PATIL, Kanchankumar P., Deepak K. PATIL, Bhushan L. CHAUDHARI a Sudhir B. CHINCHOLKAR. Production of hyaluronic acid from Streptococcus zooepidemicus MTCC 3523 and its wound healing activity. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2011, 111(3), 286-288. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2010.10.012. ISSN 13891723. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1389172310003609>
- [24] KOGAN, Grigorij, Ladislav ŠOLTÉS, Robert STERN a Peter GEMEINER. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. Biotechnology Letters. 2006-12-8, 29(1), 17-25. DOI: 10.1007/s10529-006-9219-z. ISSN 0141-5492. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10529-006-9219-z>

- [25] WEIGEL, P. H. Bacterial Hyaluronan Synthases. GlycoForum [online]. 1998 [cit. 2016-03-29]. Dostupné z: <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA06/HA06E.html>
- [26] HASCALL, V. C. a T. C. LAURENT. Hyaluronan Structure and Physical Properties. GlycoForum [online]. 1997 [cit. 2016-03-29]. Dostupné z: <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA01/HA01E.html>
- [27] DAY, A. J., SHEENAN, J. K.: Hyaluronan: Polysaccharide chaos to protein organisation. *Current opinion in structural biology*, 2001, č. 11, s. 617-622.
- [28] Stern, R.: *Hyaluronan in Cancer Biology*. 1. vyd. Oxford: Elsevier, 2009. 426 s. ISBN: 978-0-12-374178-3.
- [29] PAVICIC, Tatjana, Gerd G. GAULITZ, Peter LERSCH, Khadija SCHWACHABDELLAOUI, Birgitte MALLE, Hans Christian KORTING a Mike FARWICKA. Efficacy of cream-based novel formulations of hyaluronic acid of different molecular weights in antiwrinkle treatment. *Journal of Drugs in Dermatology*. 2011, roč. 10, č. 9.
- [30] GOTOH, S, J ONAYA, M ABE, K MIYAZAKI, A HAMAI, K HORIE a K TOKUYASU. Effects of the molecular weight of hyaluronic acid and its action mechanisms on experimental joint pain in rats: Hyaluronan. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1993, 52(11), 817-822. DOI: 10.1136/ard.52.11.817. ISSN 0003-4967. Dostupné také z: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.52.11.817>
- [31] BAREŠ, Milan a Jiří ZAJÍC. *Chemie a technologie tensidů a detergentů*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1982.
- [32] FAINERMAN, Valentin B., D. MÖBIUS a R. MILLER. *Surfactants: chemistry, interfacial properties, applications*. 1st ed. New York: Elsevier Science, Ltd., 2001. ISBN 04-445-0962-3.
- [33] RAY, PARESH CHANDRA, HONGTAO YU a PETER P. FU. Toxicity and Environmental Risks of Nanomaterials: Challenges and Future Needs. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 2009, 27(1), 1-35. DOI: 10.1080/10590500802708267. ISSN 1059-0501. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10590500802708267>
- [34] CHRISTOPHER W. MACOSKO. *Rheology: principles, measurements, and applications*. 11. print. New York: Wiley-VCH, 1994. ISBN 978-047-1185-758.
- [35] CHYTIL, M. Měření reologických vlastností hyaluronanu. CHEMPOINT [online]. 2011 [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/mereni-reologickych-vlastnosti-hyaluronanu>

- [36] PIRKL, Slavomír. Reologie a reometrie kapalin [online]. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z: [http://kf.upce.cz/st\\_literatura.html](http://kf.upce.cz/st_literatura.html)
- [37] SCHAEZT, Miroslav. Zkoušení polymerů. 2. přepr. a dopl.vyd. Praha: VŠCHT, 1988, 276 s.
- [38] KOUTSKÝ, Jaroslav. Biomateriály. Plzeň: Západočeská univerzita, 1997. ISBN 80-708-2370-4.
- [39] LOSERTOŮVÁ, Monika. Progresivní materiály: učební text. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita, 2012. ISBN 978-80-248-2575-5.
- [40] CALÓ, Enrica a Vitaliy V. KHUTORYANSKIY. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. European Polymer Journal. 2015, 65, 252-267. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024. ISSN 00143057. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305714004091>
- [41] AKHTAR, Muhammad Faheem, Muhammad HANIF a Nazar Muhammad RANJHA. Methods of synthesis of hydrogels ... A review. Saudi Pharmaceutical Journal. 2015, , -. DOI: 10.1016/j.jsps.2015.03.022. ISSN 13190164. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319016415000857>
- [42] SASAKI, S., T. MURAKAMI a A. SUZUKI. Frictional properties of physically cross-linked PVA hydrogels as artificial cartilage. Biosurface and Biotribology. 2016, 2(1), 11-17. DOI: 10.1016/j.bsbt.2016.02.002. ISSN 24054518. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405451816000039>
- [43] ZHANG, Hongbin, Fei ZHANG a Juan WU. Physically crosslinked hydrogels from polysaccharides prepared by freeze-thaw technique. Reactive and Functional Polymers. 2013, 73(7), 923-928. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2012.12.014. ISSN 13815148. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514813000047>
- [44] SONG, Guoshan, Lei ZHANG, Changcheng HE, De-Cai FANG, Philip G. WHITTEN a Huiliang WANG. Facile Fabrication of Tough Hydrogels Physically Cross-Linked by Strong Cooperative Hydrogen Bonding. Macromolecules. 2013, 46(18), 7423-7435. DOI: 10.1021/ma401053c. ISSN 0024-9297. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ma401053c>
- [45] ULLAH, Faheem, Muhammad Bisyrul Hafi OTHMAN, Fatima JAVED, Zulkifli AHMAD a Hazizan Md. AKIL. Classification, processing and application of hydrogels: A review. Materials Science and Engineering: C. 2015, 57, 414-433. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.053. ISSN 09284931. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115302393>

- [46] PETZOLD, Gudrun, Victoria DUTSCHK, Mandy MENDE, Reinhard MILLER a Liliana VERESTIUC. Interaction of cationic surfactant and anionic polyelectrolytes in mixed aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2008, 319(1-3), 43-50. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2007.06.011. ISSN 09277757. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775707006334>
  
- [47] VASI, Ana-Maria, Marcel Ionel POPA, Maria BUTNARU, Gianina DODI a Liliana VERESTIUC. Chemical functionalization of hyaluronic acid for drug delivery applications. *Materials Science and Engineering: C*. 2014, 38(1-3), 177-185. DOI: 10.1016/j.msec.2014.01.052. ISSN 09284931. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114000605>
  
- [48] THALBERG, K., LINDMAN, B.: Interaction between Hyaluronan and Cationic Surfactant. *The Journal of physical chemistry*. Washington: American Chemical Society, 1989, č. 93, s. 1478-1483.
  
- [49] HALASOVÁ, T. Interakce hyaluronanu a amfifilních molekul. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 160 s. Vedoucí dizertační práce prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc..

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

### 8.1 Seznam použitých zkratk

AAm	akrylamid
CMC	kritická micelární koncentrace
CTAB	cetyltrimethylamonium bromid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FCS	fluorescenční korelační spektroskopie
HAS1, HAS2, HAS3	hyaluronansyntázy
Hya	hyaluronan
LVO	lineární viskoelastická oblast
NMR	nukleární magnetická rezonance
PAAm	polymerizovaný akrylamid
PVA	polyvinylalkohol
PVP	poly( <i>N</i> -vinylpyrrolidon)

### 8.2 Seznam použitých symbolů

$d$	lineární rozměr
$du$	vzájemná rychlost pohybu smykových rovin
$dx$	vzdálenost smykových rovin
$D$	smyková rychlost
$G'$	elastický modul
$G''$	viskozitní modul
$M$	$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
	molární hmotnost
$M_w$	molekulová hmotnost
$\delta$	ztrátový úhel
$\eta$	dynamická viskozita
$\eta_0$	zdánlivá viskozita
$\tau$	tečné napětí
$\nu$	kinematická viskozita
$\rho$	hustota
$\varphi$	úhel pootočení
$\omega$	úhlová rychlost
$k$	konstanta